

В.В. Зинчук, С.В. Гацура, Н.В. Глуткина

**КОРРЕКЦИЯ
КИСЛОРОДТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ
КРОВИ ПРИ ПАТОЛОГИИ
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ**

Монография

Гродно
ГрГМУ
2016

УДК 615.224.03:616.127-005.4
ББК 54.101
З-63

Рекомендовано Редакционно-издательским советом ГрГМУ
(протокол №9 от 9.06.2016).

Авторы: зав. каф. нормальной физиологии ГрГМУ, д-р мед. наук,
проф., В. В. Зинчук;
д-р мед. наук, проф. каф. госпитальной терапии №1
Московского государственного медико-стоматологического
университета С. В. Гацура;
канд. мед. наук, ассист. каф. №1 внутренних болезней
ГрГМУ Н. В. Глуткина.

Рецензенты:

зав. кафедрой №1 внутренних болезней Гродненского государственного медицинского университета д-р мед. наук,
проф. В. М. Пырочкин;
зав. каф. фармакологии Московского государственного
медицинского университета им. А. И. Евдокимова, проф.,
д-р мед. наук А. Г. Муляр.

Зинчук, В. В.

З-63 **Коррекция кислородтранспортной функции крови при
патологии сердечно-сосудистой системы / В.В. Зинчук,
С.В. Гацура, Н.В. Глуткина – 2016. – 312с.
ISBN 978-985-558-769-0.**

Монография посвящена проблеме фармакологической коррекции кислородтранспортной функции крови (сродства гемоглобина к кислороду и деформируемости эритроцитов) при патологии сердечно-сосудистой системы. Книга предназначена для фармакологов, кардиологов, патофизиологов, аспирантов, магистрантов. Монография содержит 48 рисунков и 50 таблиц.

**УДК 615.224.03:616.127-005.4
ББК 54.101**

ISBN 978-985-558-769-0

© Зинчук В. В., Гацура С. В., Глуткина Н. В., 2016
© ГрГМУ, 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	6
ВВЕДЕНИЕ	7
Глава 1. РЕГУЛЯТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДИССОЦИАЦИИ ОКСИГЕМОГЛОБИНА.....	9
1.1 Структура и физиологические механизмы функционирования гемоглобина	9
1.2 Генетические особенности структуры и функции гемоглобина.....	16
1.3 Методы исследования сродства гемоглобина к кислороду	19
1.4 Аллостерические регуляторы кислородсвязывающих свойств гемоглобина	24
1.5 Внутриэритроцитарная регуляция сродства гемоглобина к кислороду	28
1.6 Кривая диссоциации оксигемоглобина: физиологическое значение ее сдвигов.....	37
1.7 Влияние эритропоэтина на механизмы транспорта кислорода кровью	47
1.8 Эффект мелатонина на кислородтранспортную функцию крови	53
1.9 Динамика сродства гемоглобина к кислороду при некоторых физиологических и патологических состояниях...	57
1.10 Сдвиги сродства гемоглобина к кислороду при ишемии миокарда и сопутствующих патологиях	60
1.10.1 Влияние противоишемических средств на сродство гемоглобина к кислороду.....	62
1.10.2 Влияние средств комплексной терапии ИБС на сродство гемоглобина к кислороду.....	71
Глава 2. ГАЗОТРАНСМИТТЕР МОНООКСИД АЗОТА И КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА КРОВИ	80
2.1 Кровь и L-аргинин-NO система	80
2.2 Кислородсвязывающие свойства гемоглобина в генезе дисфункции эндотелия.....	91

2.3 Особенности кислородтранспортной функции крови у пациентов с артериальной гипертензией в условиях комплексной патогенетической терапии	106
2.4 Кислородтранспортная функция крови у пациентов с стенокардией в условиях патогенетической терапии.....	110
2.5 Влияние патогенетической терапии на механизмы транспорта кислорода у пациентов с инфарктом миокарда при метаболическом синдроме, сахарном диабете 2-го типа	113

Глава 3. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ДЕФОРМИРУЕМОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ КАК ФАКТОР УЛУЧШЕНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ В ИШЕМИЗИРОВАННЫХ ТКАНЯХ..... 128

3.1 Структура и функция эритроцита.....	129
3.2. Физиологическое значение деформируемости эритроцитов.....	131
3.3 Факторы, определяющие деформируемость эритроцитов.....	137
3.4 Методы исследования деформируемости эритроцитов	141
3.5 Деформируемость эритроцитов при нарушениях кислородного обеспечения	145
3.6 Сдвиги деформируемости эритроцитов при ИБС и некоторых других сопутствующих заболеваниях.....	151
3.7 Влияние средств фармакотерапии ИБС на деформируемость эритроцитов.....	154

Глава 4. ВЗАИМОСВЯЗЬ СДВИГОВ СРОДСТВА ГЕМОГЛОБИНА К КИСЛОРОДУ И ДЕФОРМИРУЕМОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ С ДИНАМИКОЙ ПОЛ ПРИ ИБС 163

4.1 Вклад транспорта кислорода кровью в формировании прооксидантно-антиоксидантного состояния организма.....	163
4.2 Сдвиги ПОЛ при острой и хронической ИБС	184
4.3 Влияние средств комплексной фармакотерапии ИБС на ПОЛ	191
4.4 Анализ взаимоотношении сдвигов сродства гемоглобина к крови, деформируемость эритроцитов и ПОЛ при ишемии миокарда и действии средств фармакотерапии ИБС.....	203

Глава 5. ДОНАТОРЫ КИСЛОРОДА	213
5.1 Препараты гемоглобина.....	215
5.2 Кислородпереносящие фторуглеродные растворы	216
5.3 Персульфат натрия как донатор кислорода.....	220
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	230
ЛИТЕРАТУРА	234

СПИСОК ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

2,3-ДФГ	- 2,3-дифосфоглицерат
АГ	- артериальная гипертензия
АОС	- антиоксидантная система
АФК	- активные формы кислорода
ДК	- диеновые конъюгаты
ДЭ	- деформируемость эритроцитов
иNOS	- индуцибельная изоформа NO-синтазы
ИБС	- ишемическая болезнь сердца
ИМ	- инфаркт миокарда
КДО	- кривая диссоциации оксигемоглобина
КЕК	- кислородная емкость крови
КТФ	- кислородтранспортная функция
ЛПС	- липополисахарид
МДА	- малоновый диальдегид
МС	- метаболический синдром
ОШ	- основания Шиффа
НЭЛИ	- низкоэнергетическое лазерное излучение
ПДК	- показатель деоксигенации крови
ПОЛ	- перекисное окисление липидов
ПСН	- персульфат натрия
СД	- сахарный диабет
СГК/СКК	- сродство гемоглобина /крови к кислороду
СОД	- супероксиддисмутаза
ССН	- стабильная стенокардия напряжения
NOС	- NO-синтаза
ЭПО	- эритропоэтин- α
Hb	- гемоглобин
HbO ₂	- оксигемоглобин
NO	- монооксид азота
O ₂	- кислород
p50	- показатель сродства гемоглобина к кислороду
pH	- концентрация ионов водорода
pO ₂	- парциальное давление кислорода
SBC	- концентрация стандартного бикарбоната
sO ₂	- степень насыщения крови кислородом
pCO ₂	- парциальное давление углекислого газа

ВВЕДЕНИЕ

Клинические данные свидетельствуют о том, что перспективным направлением в борьбе с гипоксией является использование фармакологических средств, уменьшающих гипоксию и повышающих устойчивость организма к кислородной недостаточности. Особый интерес представляют лекарственные средства, целенаправленно влияющие на улучшение кислородтранспортной функции (КТФ) крови, поддержание энергетического баланса организма.

В течение последних лет вопросы регуляции КТФ крови также исследуются лишь в немногих лабораториях экспериментального кардиологического и фармакологического профиля.

В настоящее время проблема регуляции КТФ крови реализуется в следующих основных направлениях:

- Изучение фармакологической регуляции СГК. Особую актуальность это направление приобрело в связи с высоким лечебным эффектом аллостерических активаторов деоксигенации гемоглобина типа RSR13 [Perutz M. et al., 1983; Eichelbronner O. et al., 1999].
- Исследование возможностей использования растворов нативного и модифицированного гемоглобина с низким СГК, а также структурированного на "моделях" эритроцитов или в форме полимерных макромолекул гемоглобина.
- Определение деформируемости эритроцитов (ДЭ) с целью учета влияния этого фактора на микроциркуляцию и трансмембранную диффузию кислорода.
- Исследование сдвигов сродства гемоглобина (СГК) и ДЭ в условиях патологии и разработка индивидуализированной фармакотерапии на основе учета медико-лабораторной паспортизации пациентов и влияния на эти показатели средств традиционной фармакотерапии сердечно-сосудистых заболеваний.
- Поиск новых фармакологических и иных средств коррекции кислородтранспортной функции крови при гипоксических состояниях.
- Исследование роли кислородсвязывающих свойств крови и газотрансмиттеров в развитии оксидативных повреждений.

- Системные механизмы транспорта кислорода и полиморфизм генов.

Терапевтический потенциал снижения СГК за счет целенаправленного использования фармакологических средств или получения генмодифицированного гемоглобина с высоким $p50$ трудно переоценить. Эффективность адаптационных сдвигов транспорта кислорода наряду с динамикой СГК в значительной мере связана с уровнем ДЭ, определяющим состояние микроциркуляции в ишемизированных тканях. Исследование роли сдвигов ДЭ в патогенезе ишемической альтерации тканей и в процессе фармакотерапии является важным условием оптимизации дифференцированной лекарственной терапии патологии сердечно-сосудистой системы.

Создание данной монографии стало результатом тесного сотрудничества авторского коллектива из Москвы и Гродно. В 2005 г. издана монография С. В. Гацуры, В. В. Гацуры «Проблемы регуляции кислородтранспортной функции крови в кардиологии». Она посвящена анализу современного состояния исследований по изучению влияния средств фармакотерапии ИБС на кислородтранспортную функцию крови, ДЭ и взаимозависимости сдвигов СГК и ДЭ с динамикой ПОЛ. Однако с момента ее издания получено много новых фактов о характере изменений кислородтранспортной функции крови при патологии сердечно-сосудистой системы. В этот период происходило также тесное сотрудничество авторов данной монографии с исследователями из Беларуси. Все это в совокупности и привело к созданию новой монографии, продолжающей стратегию прошлого издания.

ГЛАВА 1.

РЕГУЛЯТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДИССОЦИАЦИИ ОКСИГЕМОГЛОБИНА

Гемоглобин занимает уникальное положение по количеству экспериментальных работ, посвященных исследованиям его структуры и механизмов функционирования в стереохимическом плане. Более двух десятилетий в США издается специальный журнал “Hemoglobin” и публикуются многие сотни работ, где рассматриваются разные аспекты химии и биологической активности гемоглобина.

Анализ современных подходов к проблеме регуляции SGK позволяет в общих чертах выделить ряд основных направлений, имеющих прикладное значение для кардиологической практики (рис. 1).

1.1 Структура и физиологические механизмы функционирования гемоглобина

Способность ишемизированного миокарда утилизировать кислород является одним из функциональных показателей обратимости его альтерации.

Количество кислорода, потребляемого миокардом в единицу времени, можно определить по формуле:

$$MO_2 = Q \cdot (HbO_{арт} - HbO_{вен}) \cdot 1,34 + Q \cdot (C_{арт} - C_{вен}),$$

где Q – объем крови, притекающей к миокарду за 1 мин.;

$HbO_{арт}$ – содержание оксигемоглобина в артериальной крови;

$HbO_{вен}$ – содержание оксигемоглобина в крови венечного синуса;

1,34 – фактор Гюфнера (количество кислорода, связанного 1 г HbO);

$C_{арт}$ – количество кислорода, растворенного в плазме артериальной крови;

$C_{вен}$ – то же в плазме венозной крови.

Потребность тканей организма в сутки составляет около 600 литров O_2 . Эта потребность покрывается главным образом за счет диссоциации оксигемоглобина, так как величина растворенного в плазме крови кислорода ничтожно мала (0,2-0,3 мл на 100 мл крови).

Один литр крови переносит 200 мл кислорода в форме оксигемоглобина. Из них высвобождается около 70 мл O_2 при диссоциации 30-35% оксигемоглобина. Таким образом, в течение суток должно быть оксигенировано около 9000 л крови, что вполне достижимо при минутном объеме кровообращения (6,25 л), характерном для состояния покоя.

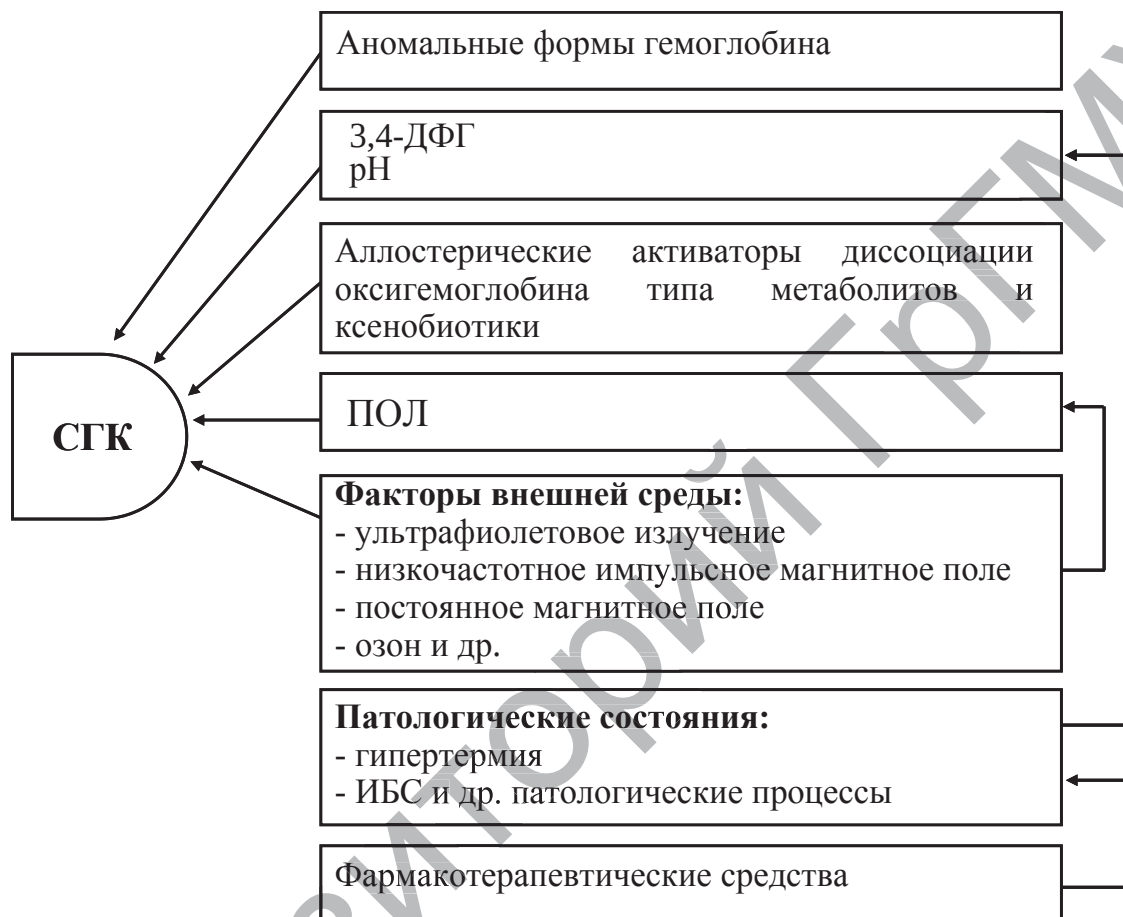


Рисунок 1. – Основные факторы, влияющие на сродство гемоглобина к кислороду

Показана возможность применения при ишемии миокарда гипербарической оксигенации, низкомолекулярных донаторов кислорода и кислородпереносящих растворов (рис. 2) и детально рассмотрена проблема фармакологической регуляции СГК [Гачура С.В., 2000]. Наиболее перспективным и интенсивно разрабатываемым направлением поиска средств обеспечения миокарда кислородом является исследование возможности повышения диссоциации оксигемоглобина и активации его транспорта в ткани.

В физиологических условиях в ткани поступает кислород, освобождающийся при диссоциации 30-35% оксигемоглобина, что указывает на большие резервные возможности поставки дополнительных количеств кислорода в ишемизированный миокард. Другим значительным резервом повышения транспорта кислорода к миокарду следует считать возможность ускорения диффузии из эритроцитов, так как даже в физиологических условиях скорость отдачи оксигемоглобином 50% кислорода довольно низкая (0,6 с), тогда как скорость деоксигенации измеряется тысячными долями секунды [Гиммерих Ф.И., 1966].

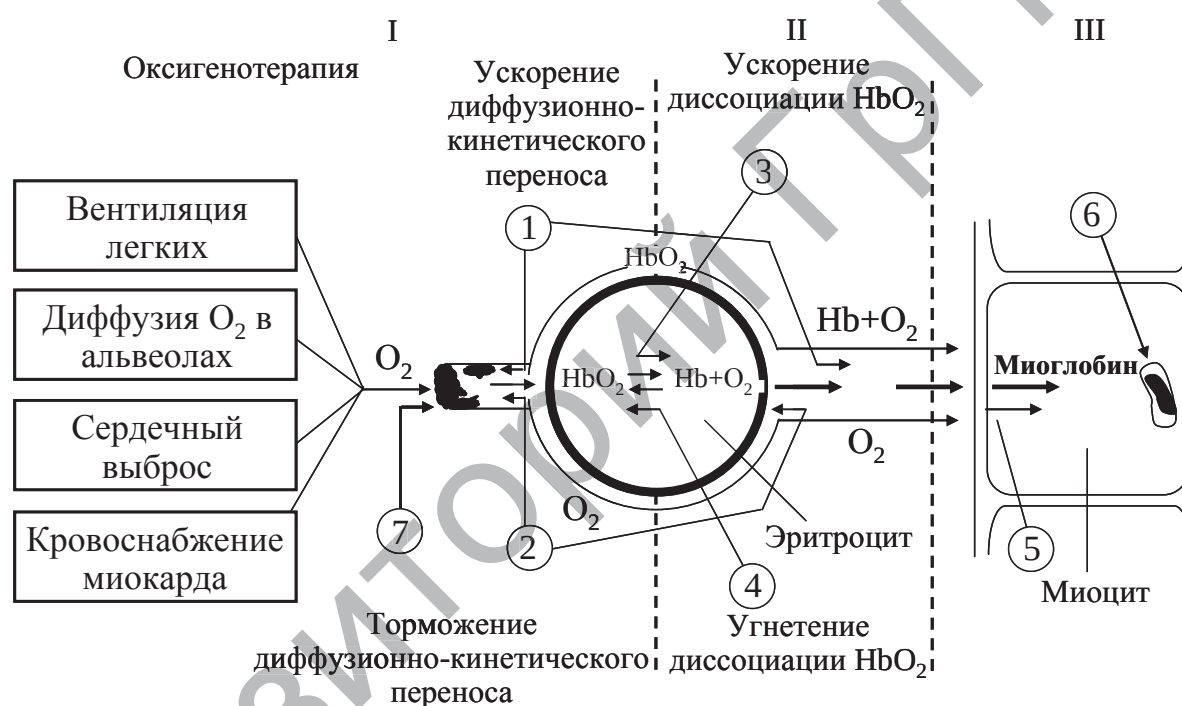


Рисунок 2. – Возможные пути фармакологической регуляции обеспечения миокарда кислородом

I – фаза насыщения гемоглобина и плазмы крови кислородом; II – диссоциация оксигемоглобина в крови капилляров; III – внутриклеточный транспорт кислорода.

1 и 2 – влияние на перенос кислорода через мембрану эритроцитов; 3 и 4 – влияние на SGK; 5 – повышение внутриклеточного пула кислорода и его транспорта к митохондриям; 6 – влияние на транспорт кислорода через мембраны митохондрий и интенсивность потребления кислорода; 7 – повышение содержания кислорода, растворимого в плазме крови или кислородпереносящей жидкости.

Чрезвычайно важной представляется также роль внутриклеточного переносчика кислорода миоглобина, молекулярные механизмы функционирования которого рассмотрены в ряде обзоров [Борисюк М.В., 1984; Jurgens K. et al., 2000; Richards M.P., 2013].

В качестве факторов внутриклеточного депонирования кислорода рассматриваются также нейроглобин и цитоглобин. Последний открыт в тканях практически всех органов [Hamdane D. et al., 2003]. Проблема филогенеза кислородтранспортных протеинов в эволюционном плане и связанные с ней перспективы биотехнологии получения геннотерапевтических препаратов детально проанализированы в обстоятельном обзоре N. Terwilliger [1998].

Эти и некоторые другие возможности регуляции экстренных адаптационных механизмов переноса кислорода к ферментативным системам митохондрий ишемизированного миокардиоцита представляют большой интерес для современной кардиофармакологии, но, к сожалению, еще не привлекли достаточного внимания исследователей при оценке роли сдвигов СГК в поддержании гомеостаза гипоксических тканей.

С целью уточнения возможностей фармакологической коррекции кислородпереносящей функции гемоглобина необходимо кратко остановиться на особенностях его строения и кооперативном характере связывания кислорода.

Гемоглобин (молекулярная масса 64500) включает четыре простетические гемогруппы с закисным железом и белковую часть (глобин), состоящую из двух альфа-цепей (141 аминокислотный остаток в каждой) и двух бета-цепей (по 146 остатков). В пределах четырех субъединиц полипептидные цепи уложены относительно друг друга в виде тетраэдра, образуя характерную четвертичную структуру гемоглобина (рис. 3).

Каждый гем погружен в “карман”, выстланный гидрофобными R-группами и соединен пятой координационной связью с R-группой остатка гистидина. Шестая координационная связь атома железа в каждом геме свободна и используется для связывания молекулы O_2 (рис. 4). Между идентичными субъединицами (α и β) точки соприкосновения друг с другом единичны, тогда как между разными субъединицами имеется множество контактов, стабилизирующих пары $\alpha_1\beta_1$ и $\alpha_2\beta_2$

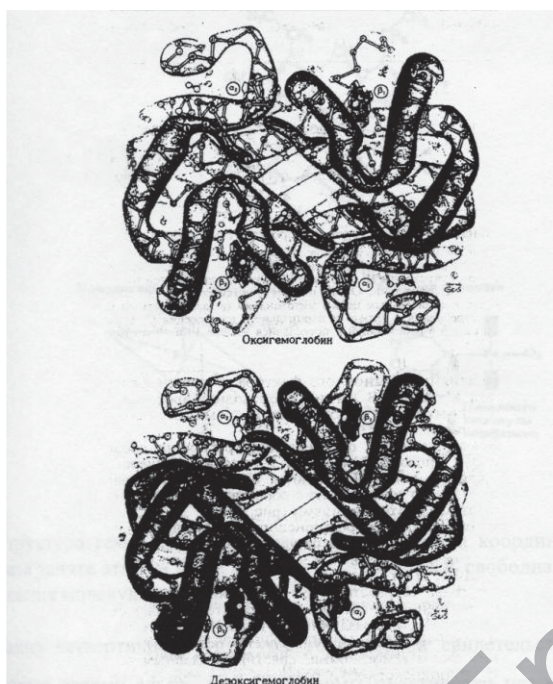


Рисунок 3. – Трехмерная структура окси- и дезоксигемоглобина, установленная методом рентгеноструктурного анализа. Субъединицы объединены в пары $\alpha_1\beta_1$ и $\alpha_2\beta_2$

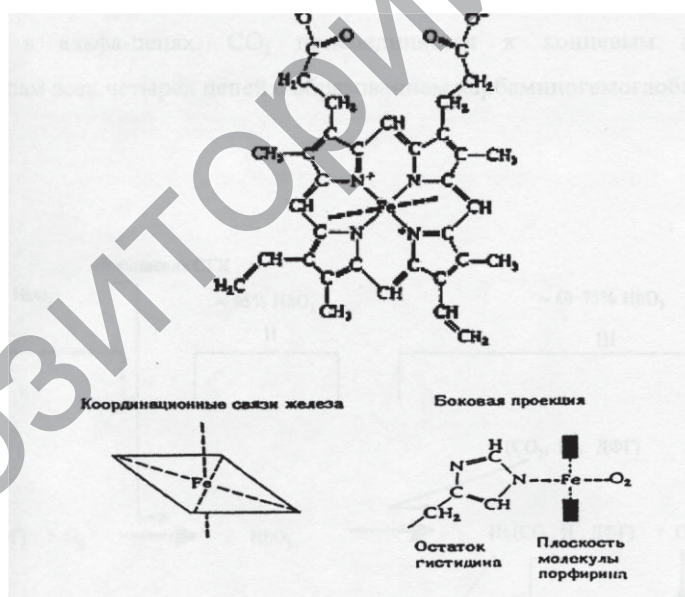


Рисунок 4. – Структура гема. Вне плоскости порфирина одна координационная связь железа занята атомом азота гистидина, вторая связь свободна и служит для связывания молекулы кислорода

Анализ четвертичной структуры гемоглобина свидетельствует, что между двумя цепями альфа- или бета-формы практически нет контактов, тогда как между альфа- и бета-цепями возни-

кают контакты с участием гидрофобных R-групп аминокислотных остатков ($\alpha_1\beta_1$ или $\alpha_2\beta_2$). Между цепями остается пространство, проходящее через всю молекулу гемоглобина. Эта полость при оксигенации гемоглобина уменьшается за счет сближения гемов бета-цепей, а гемы альфа-цепей при этом раздвигаются. При этом сродство к связыванию последующих молекул кислорода повышается в 300 раз (явление кооперативного взаимодействия между субъединицами)[Wyman J., 1963]. Изменение СГК при реакции гемоглобина с CO_2 и ионами H^+ (эффект Бора) связывается с взаимодействием H^+ с R-группами остатков гистидина-146 в бета-цепях и двумя другими остатками в альфа-цепях. CO_2 присоединяется к концевым альфа-аминогруппам всех четырех цепей с образованием карбаминогемоглобина.

Эти два агента аллостерически резко снижают сродство гемоглобина к кислороду и обеспечивают диссоциацию оксигемоглобина наряду с влиянием основного фактора – уровня содержания кислорода в тканях. В легких происходит сброс CO_2 и H^+ с полипептидных цепей гемоглобина и повышается его сродство к кислороду (рис. 5). Энергетический обмен в эритроцитах представлен гликолизом, в ходе которого и образуются основные регуляторы СГК – 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ) и восстановительные эквиваленты (рис. 6).

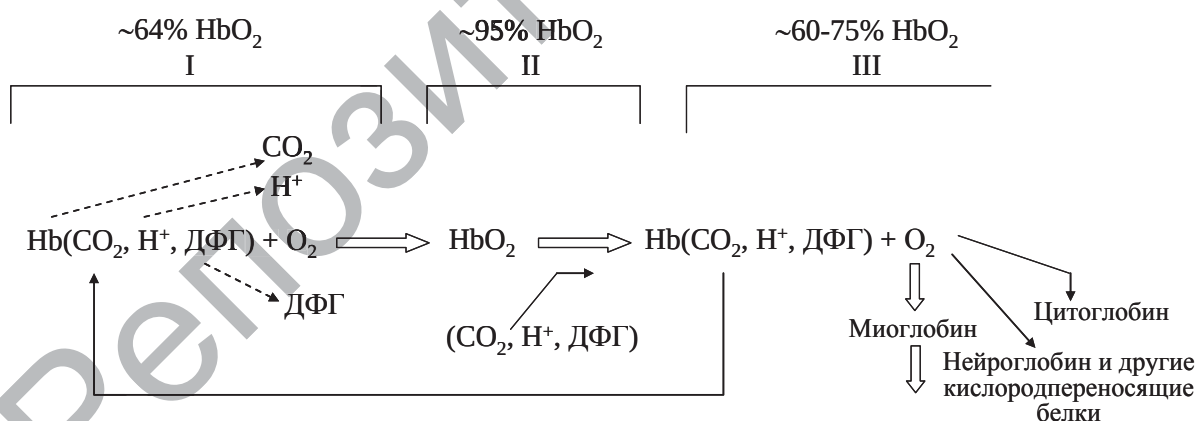


Рисунок 5. – Схема физиологической регуляции сродства гемоглобина к кислороду

I – оксигенация Hb в легких при повышении СГК после сброса CO_2 , H^+ с полипептидных цепей и вытеснения ДФГ; II – транспорт O_2 в зоны микроциркуляции; III – снижение СГК при связывании H^+ , CO_2 и ДФГ в капиллярах тканей и высвобождение O_2 (см. объяснение в тексте)

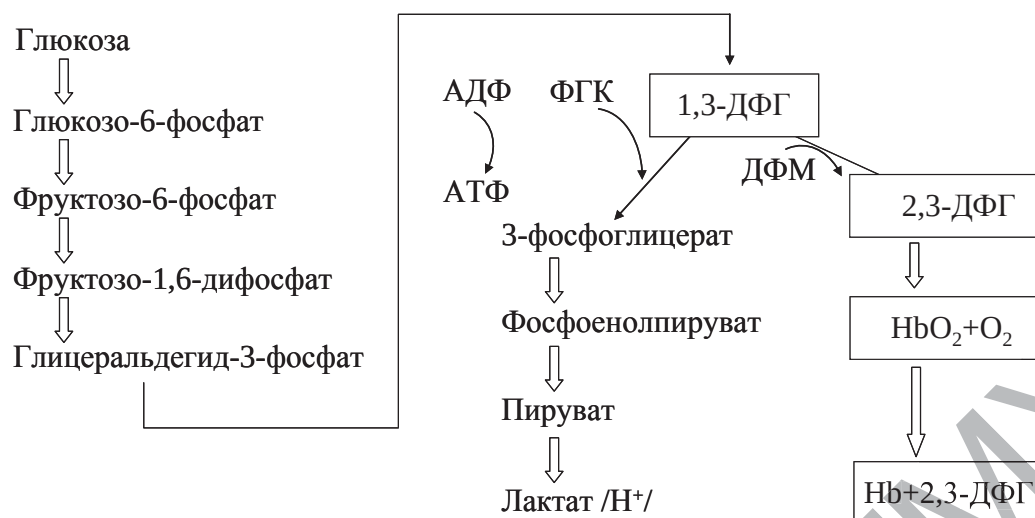


Рисунок 6. – Схема образования 2,3-ДФГ в процессе гликолиза в эритроците ФГК – фосфоглицераткиназа, ДФМ- дифосфоглицератмутаза

Ключевым лигандом, определяющим регуляцию СГК, является 2,3-ДФГ. Место его связывания – положительно заряженные R-группы полости гемоглобина с образованием поперечной связи между двумя бета-субъединицами, последующей стабилизацией Т-конформации и снижением СГК (рис. 7).

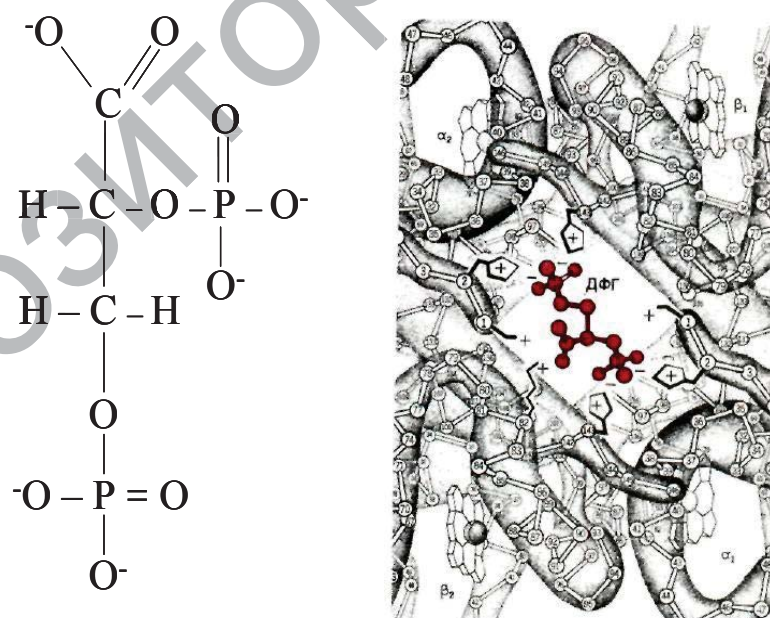


Рисунок 7. – Расположение молекулы ДФГ в центральной полости гемоглобина

Таким образом, кислородтранспортную функцию гемоглобина следует рассматривать как результат конформационных из-

менений молекулы при воздействии основных регуляторных лигандов – ДФГ, H^+ и CO_2 и др.

1.2 Генетические особенности структуры и функции гемоглобина

Тесная связь стереоструктуры гемоглобина и особенностей его кислородтранспортной функции убедительно иллюстрируется на примере анализа различных мутантных форм гемоглобина.

Обнаружено более 300, а по некоторым данным, уже более 1000 различных мутантных форм гемоглобина, связанных главным образом с заменой аминокислотного фрагмента в α - или β -цепях гемоглобина. Наличие определенного уровня мутантных форм гемоглобина в крови может существенно сказываться на полноценности кислородтранспортной функции гемоглобина крови в целом.

В частности, известно более 50 видов аномальных форм гемоглобина, приводящих к компенсаторному эритроцитозу, связанному с повышением СГК [BunnH., ForgetB., 1986]. При сахарном диабете (СД) за счет присоединения глюкозы к валину β -цепи гемоглобина A_{IC} его доля возрастает до 6-10% общего количества гемоглобина при 3-6% его содержания в норме [RahbarS.etal., 1969]. Для гемоглобина A_{IC} характерен более низкий уровень деоксигенации при воздействии 2,3-ДФГ, однако в связи с относительно невысоким содержанием $Hb A_{IC}$ (до 15%) это его свойство может проявляться негативно лишь при ишемии миокарда, мозга и других чувствительных к гипоксии тканей [BunnH., BriehlR., 1970].

Более того, еще в 1966 г. описано повышение СГК, в частности, при полицитемии [CharacheS. etal., 1966], что подчеркивает необходимость учета индивидуальных особенностей гемоглобина при фармакорезистентных формах коронарной недостаточности.

В процессе исследования возможностей использования модификаций гемоглобина как кислородтранспортных средств были обнаружены гемоглобин Debrosse [LacanP. etal., 1996] и гемоглобин Aurora [LaffertyJ. etal., 1995] с высоким сродством к кислороду. Путем образования конъюгатов Hb с декстраном уда-

лось получить комплексы как с повышенным, так и низким [ProuchayretF., DellacherieE.,1993] СГК.

Таблица1. – Аномальные гемоглобины, в которых замещены аминокислотные остатки в области, сближенной с гемом [Рифкинд Дж., 1978]

Обозначения аномальных гемоглобинов	Замещения	Влияние замещений на оксигенирование и другие свойства
MIwate	HisF 8 (87) $\alpha \rightarrow$ Tyr	α -цепи окислены, β -цепи имеют малое сродство к кислороду
M Hyde Park	His F 8 (92) $\beta \rightarrow$ Tyr	α -цепи имеют нормальное сродство к кислороду, β -цепи окислены
M Boston	His E7 (58) $\alpha \rightarrow$ Tyr	α -цепи окислены, β -цепи имеют малое сродство к кислороду
M Saskatoon	His E7 (63) $\beta \rightarrow$ Tyr	α -цепи имеют нормальное сродство, β -цепи окислены
Zurich	His E7 (63) $\beta \rightarrow$ Arg	Очень высокое сродство, уменьшенная кооперативность; аргинин укладывается в лигандный карман
M Milwaukee	Val E11 (67) $\beta \rightarrow$ Glu	α -цепи окислены; COO ⁻ может образовывать солевой мостик с Fe (III)
Bristol	Val E 11 (67) $\beta \rightarrow$ Asp	Низкое сродство; COO ⁻ может закрыть лигандный карман, образуя солевой мостик с HisE7
Sydney	Val E11 (67) $\beta \rightarrow$ Ala	Неустойчив, гемы легко отделяются от β -цепи
Hammersmith	Phe CD1 (42) $\beta \rightarrow$ Ser	Низкое сродство- результат экранирования гема в лигандированной конформации
Bucuresti	Phe CD1 (42) $\beta \rightarrow$ Leu	Низкое сродство- результат экранирования гема в лигандированной конформации
Santa Ana	Leu F4 (88) $\beta \rightarrow$ Pro	В β -цепи отсутствует гем
Boras	Lew F4(88) $\beta \rightarrow$ Aro	Высокое сродство – проксимальная сторона гема открыта
Koln	Val FG5 (98) $\beta \rightarrow$ Met	Высокое сродство

Наиболее детально исследована в этом плане серповидноклеточная анемия, при которой у гемоглобина в 6-ом положении β -цепи остаток глутаминовой кислоты заменен на валин (гемоглобин S). При этой форме гемоглобинопатии деоксигенированный гемоглобин полимеризуется, придавая эритроцитам характерную форму [BuchananG., 1993], вызывая нарушения микроциркуляции и другую типичную для этой болезни симптоматику.

Так, обследование около 7000 студентов Российского университета дружбы народов выявило около 400 случаев аномалий гемоглобина, из них – 69 случаев с HbS [Троицкая О.В. и др., 1999].

Таблица 2. – Аномальные гемоглобины с замещенными аминокислотными остатками в контактах между субъединицами [Rifkind D., 1978]

Обозначение аномального гемоглобина	Замещения	Влияние на оксигенирование и другие свойства	Контакт
J. Capetown	Arg FG4(92) α →Gln	Высокое сродство-снижена кооперативность	$\alpha_1\beta_2$
Chesapeake	Arg FG4(92) α →Leu	То же	$\alpha_1\beta_2$
Kansas	Asn G4(102) β →Thr	Очень малое сродство, уменьшена кооперативность вследствие диссоциации на димеры	$\alpha_1\beta_2$
Yakima	Asp G1(99) β →His	Очень высокое сродство, некооперативное взаимодействие	$\alpha_1\beta_2$
Kempsey	Asp G1(99) β →Asn	Очень высокое сродство	$\alpha_1\beta_2$
Malmo	His FG(97) β →Gln	То же	$\alpha_1\beta_2$
Hirose	Trp C3(97) β →Ser	Очень высокое сродство, кооперативность понижена	$\alpha_1\beta_2$
G. Chinese	Glu B11(30) α →Gln	Нет влияния	$\alpha_1\beta_1$
Chiapas	Pro GH2(114) α →Arg	То же	$\alpha_1\beta_1$
Yoshizuka	Asn G10(108) β →Asp	Низкое сродство	$\alpha_1\beta_1$
Philly	Tyr C1(35) β →Phe	Контакты ослаблены настолько, что все цистеины реагируют с пара-меркурибензоатом Диссоциация на мономеры в присутствии пара-меркурибензоата	$\alpha_1\beta_1$
Tacoma	Arg B12(30) β →Ser	Высокое сродство	$\alpha_1\beta_1$

Помимо указанных в таблицах 1 и 2 семи аномальных форм гемоглобина с низким сродством, Н. Вунни В. Forget [1986] приводят дополнительно 13 подобных стабильных вариантов гемоглобина, которые могут рассматриваться, как база для разработки технологии получения модифицированных гемоглобинсодержа-

щих растворов с повышенным уровнем диссоциации оксигемоглобина.

Несмотря на обнадеживающие попытки применения генномодифицированных гемоглобинов в клинической практике, проблема развития биотехнологии получения гемоглобинов с программируемым уровнем СГК требует взвешенной оценки факторов риска, сопряженных с использованием этого типа препаратов гемоглобина.

1.3 Методы исследования сродства гемоглобина к кислороду

В ряде клинических исследований разных лет выявлено статистически достоверное снижение СГК у пациентов с ИБС как по тесту $p50$, так и по сдвигам кривой диссоциации оксигемоглобина [KostukW. et al., 1973; Григорьянц Р.А. и др., 1980]. Примечательно, что $p50$ гемоглобина в крови из венечного синуса составляет $35,0 \pm 1,44$ при его значении для смешанной венозной крови $30,9 \pm 1,16$ мм рт. ст. [Борисюк М.В., 1984].

Отмеченное снижение СГК рассматривается как важный фактор компенсации кислородной недостаточности при различных патологических состояниях. Данные о сдвигах СГК при ИБС, отраженные в ряде обзоров [Гацура В.В., Гацура С.В., 1982; Борисюк М.В., 1984; SmilerB., 2000; BerlinG. et al., 2002], будут детально рассмотрены ниже. Физиологические факторы регуляции оксигенации гемоглобина и диссоциации оксигемоглобина систематизированы и представлены более подробно в ряде обстоятельных публикаций [Коржуев П.А., 1973; Зинчук В.В., Борисюк М.В., 1999; ShappellS., LenfantC., 1972; NortonJ., SmithR., 1976].

Данные о возможностях фармакологической коррекции базируются на сравнительно простых методических приемах определения СГК и скорости деоксигенации крови.

Стандартным методом исследования является определение СГК по величине $p50$ [парциального напряжения кислорода (pO_2), при котором гемоглобин оксигенирован на 50%]. Низкое значение $p50$ соответствует высокому СГК, и наоборот.

Для определения $p50$ на аппарате “Немох-Analyzer” (фирма TCSScientific, США) записывается кривая диссоциации оксиге-

моглобина (КДО) в стандартных условиях при температуре 37°C. Прибор обеспечивает автоматическую запись КДО благодаря мониторинговому определению pO_2 кислородным электродом и фракции оксигемоглобина на спектрофотометре. Для регистрации КДО используют 30-50 мкл цельной крови.

Широко используется определение $p50$ по методу "смешивания" [Борисюк М.В. и др., 1991; Scheid P., Meyer M., 1978], сущность которого заключается в предельной оксигенации и деоксигенации 2 частей пробы крови и последующем определении на микрогазоанализаторе $p50$ как pO_2 в смеси равных объемов из оксигенированной и деоксигенированной порций исследуемого образца.

Детальный анализ различных вариантов определения СГК в клинических условиях представлен в работе И.Л. Виноградовой и др. [1981].

Для более точного определения $p50$ предложен ряд математических моделей, в которых учитываются такие факторы, как значение pH , pCO_2 , концентрация 2,3-ДФГ в эритроцитах, фракции фетального гемоглобина, HbCO и MetHb [Власов Ю.А., Смирнов О.М., 1984; Рядовой Г.В., Тутубалин В.Н., 1994; Severinghaus J., 1979; Sigaard-Andersen O. et al., 1988]. Следует, однако, признать, что эти математические модели, как и попытки многофакторного компьютерного анализа кривых диссоциации оксигемоглобина, выходят за пределы необходимого при постановке фармакологических экспериментов.

Скорость деоксигенации крови является существенным компонентом адаптационных реакций при гипоксии и, с этой точки зрения, исследование данного показателя важно также для понимания механизмов формирования защитного действия потенциальных антигипоксантов и противоишемических средств.

Исследование скорости деоксигенации взвеси эритроцитов проводится модифицированным методом полярографической кулонометрии [Эпштейн И.М., 1966]. Электролиз проб крови проводят на специальной установке (рисунок 8) при разности потенциалов на электродах 1,375 В, температуре 37°C, скорости вращения магнитной мешалки 350 об/мин. В качестве электролита используют 0,1 М раствор HCl. Донорскую кровь в объеме 0,1 мл разбавляют в 0,3 мл физиологического раствора (pH 7,4), полу-

ченный раствор крови насыщают смесью, состоящей из 95% O_2 и 5% CO_2 в течение 60 с при избыточном давлении 150 мм рт.ст.

Каплю сатурированной пробы наносят на поверхность ртути в рабочую ячейку и накрывают шлифованным стеклом. Затем камеру осторожно заполняют электролитом и после 2 мин термостатирования замыкают измерительную цепь полярографа. Запись изменения тока электролиза производится автоматически на самопишущем потенциометре до установления стационарного уровня остаточного тока.

Растворы исследуемых веществ, приготовленные на физиологическом растворе (pH 7,4), добавляют к 0,1 мл крови таким образом, чтобы полученный раствор (0,4 мл) содержал изучаемый препарат в необходимой концентрации. Далее рабочий раствор насыщают O_2 и определяют ток электролиза, после чего строят графики зависимости содержания HbO_2 от показателя изменения тока электролиза в ячейке (ΔI) и графически находят значения показателей деоксигенации крови (ПДК), которые измеряются в условных единицах по величине изменения тока электролиза в ячейке в момент полунасыщения пробы кислородом.

Определяют также константу деоксигенации крови (K) (угол наклона прямой на участке, соответствующем 50% деоксигенации) (рисунок 8). С целью стандартизации измерений ПДК крови, в каждом образце крови, взятой от крысы, предварительно изучается действие 2,3-ДФГ в концентрации $1,2 \times 10^{-3} M$. В работе используется лишь кровь от животных, в которой выявилось стимулирующее деоксигенацию действие 2,3-ДФГ. Исследуемые вещества изучают в концентрациях 10^{-6} - $10^{-3} M$ с учетом их возможного содержания в тканях организма при введении соединений в диапазоне условных терапевтических доз.

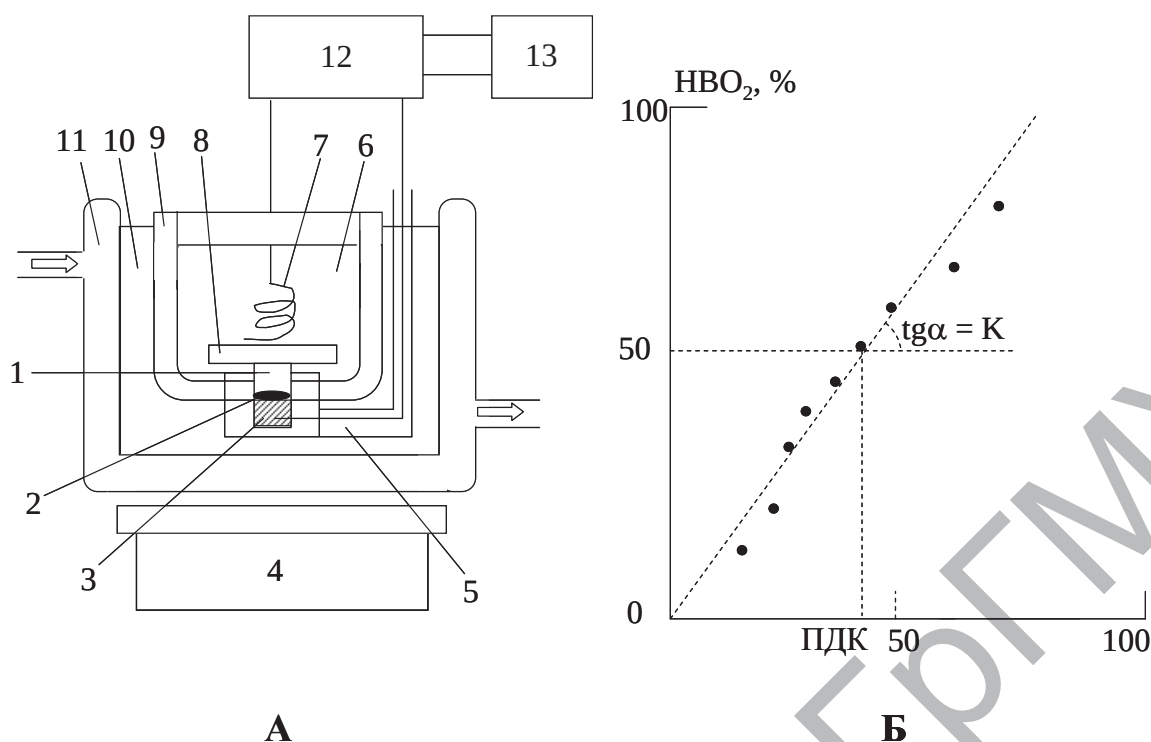


Рисунок 8. – Полярографическая установка для определения скорости деоксигенации крови (А) и регистрируемые параметры (Б)

А – 1 – раствор крови; 2 и 4 – магнитная мешалка; 3 – ртуть; 5 – платиновый проводник; 6 – буферный раствор; 7 – хлорсеребряный электрод; 8 – шлифованная стеклянная пластинка; 9 – камера; 10 – вода; 11 – термостатируемая камера; 12 – полярограф; 13 – самописец. Б. Кинетика процесса деоксигенации крови и регистрируемые параметры (комментарии в тексте).

Как показали результаты исследования влияния ряда соединений, обладающих противоишемической активностью, они обладают довольно выраженным влиянием на процесс деоксигенации крови [Мезенцева В.С., 1991; Гацура С.В., Гукасов В.М., 1992].

Можно предположить, что в основе изменения КТФ крови под действием антигипоксантов могут лежать как конформационные механизмы изменения проницаемости мембран эритроцитов для O_2 , так и сдвиги энергетического блока (активация гликолиза и увеличение синтеза 2,3-ДФГ) с последующим изменением SGK.

Что касается конкретного механизма действия изучаемых соединений на КТФ крови, то он требует специального дополнительного исследования с использованием модуляторов прони-

цаемости эритроцитарных мембран и постановки экспериментов с растворами гемоглобина.

Экспресс-метод определения скорости диссоциации оксигемоглобина [Сапегин Д.И., 1978] основан на оксигеометрии проб крови, помещенных в герметическую камеру при пропускании чистого кислорода и гипоксических смесей (рисунок 9).

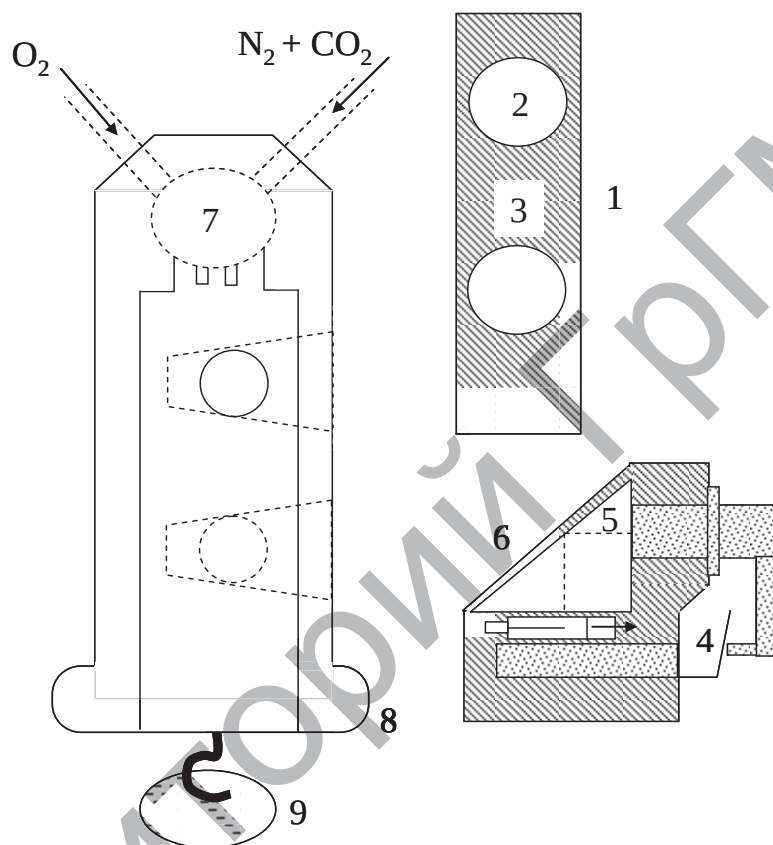


Рисунок 9. – Схема камеры для экспресс-анализа скорости диссоциации оксигемоглобина в двух пробах крови [Сапегин Д.И., 1978]

1 – планшет из черной бумаги; 2 – отверстия диаметром 18 мм; 3 – камера для помещения планшета с хроматографической бумагой; 4 – фотоэлементы оксигеометра; 5 – лампочки датчиков; 6 – зеркало; 7 – коллектор; 8 – герметизирующий резиновый колпачок; 9 – отводная трубка, опущенная в емкость с водой.

Двух-трехминутное пропускание кислорода практически весь гемоглобин крови переводит в оксигемоглобин. Затем в течение 8 мин через камеру пропускается гипоксическая смесь. Изменения процентного состава оксигемоглобина служат достаточно чувствительным показателем прочности связи кислорода с ге-

моглобином, которая может меняться при введении исследуемых веществ.

Аналогичный принцип определения СГК использован М.Б. Плотниковым и др. [1989] с регистрацией $p\text{CO}_2$, $p\text{O}_2$, $p\text{H}$ и содержания оксигемоглобина на оксигемометре OSM-1.

Весьма интересен предложенный метод энзиматической деоксигенации оксигемоглобина и построения соответствующих кривых диссоциации оксигемоглобина [Vandegriff K. et al., 1998].

Определенный интерес в методическом плане представляет оценка кислородтранспортной функции эритроцитов на изолированном сердце крыс с целью установления корреляций между $p50$ гемоглобина и уровнем потребления кислорода миокардом по функциональным тестам [Виноградов С.М., Ярочкин В.С., 1978], а также использование ряда других методик [Волков В.Я. и др., 1993; Лощинский Ю.В., 1993].

Следует отметить, что величина $p50$ может существенно различаться при ее определении в условиях оксигенации и деоксигенации – $31,5 \pm 0,6$ и $26,5 \pm 0,7$ мм рт. ст. соответственно [Иржак Л.И., 1992]. S. Gianelli et al. [1977] в наблюдениях на сотрудниках своей лаборатории отмечали существенные сдвиги расчетного $p50$ в разные дни наблюдения, не связанные с изменениями уровня 2,3-ДФГ или $p\text{H}$. При хранении крови отмечено прогрессирующее снижение как $p50$, так и 2,3-ДФГ [Осадчий П.В., Сигал В.Л., 1987].

Исследование активности донаторов кислорода и отбор растворов, депонирующих кислород (перфтордекалины, перекисные соединения и т.д.), также осуществляется с использованием указанных выше методических приемов и учетом требований, предъявляемых к плазмозамещающим растворам.

1.4 Аллостерические регуляторы кислородсвязывающих свойств гемоглобина

Проблема фармакологической регуляции СГК в последние десятилетия развивалась главным образом по пути поиска и исследования модификаций физиологических регуляторов типа 2,3-ДФГ [Эпштейн И.М. и др., 1984; Schimizu K. et al., 1974; Benesch R. et al., 1982].

Так, в частности, И.М. Эпштейном и сотр. [1984] как в опытах на очищенном гемоглобине крови человека, так и в наблюдениях на гемолизате, очищенном от эритроцитарных мембран, было показано, что D,L-ДФГ, 2,3-дифосфо-D,L-винная кислота и 1,2-бис-(фосфорилокси)-этан являются функциональными аналогами D-2,3-ДФГ, что согласуется с представлениями о стереоструктурном механизме связывания D-2,3-ДФГ с гемоглобином [Arnone A., 1972]. С целью поиска модуляторов деоксигенации оксигемоглобина было исследовано влияние на SGK пиридоксаль-5-фосфата [Степура И.И. и др., 1984], метаболитов энергетического обмена [Мезенцева В.С., 1991] и ряда других биорегуляторов. Весьма продуктивным стал также поиск аллостерических стимуляторов деоксигенации оксигемоглобина среди синтетических соединений типа орто-йодбензоата [Костенко Л.Х. и др., 1984; Gross G. et al., 1977], феноксибензамина [Watkins G. et al., 1976] и особенно среди фибратов – RSR-13, RSR-4, а также родственных производных цикlopentanкарбоновой кислоты (JP7 и др.), получаемых в форме конъюгатов с аминокислотами [Youssef F. et al., 2002].

Другое высокотехнологичное направление поиска активаторов деоксигенации гемоглобина связано с попытками поликонденсации гемоглобина глутаровым альдегидом с одновременным введением в макромолекулу полигемоглобина аллостерических модуляторов сброса кислорода, в частности, пиридоксаль-5-фосфата, глутаминовой кислоты и некоторых других соединений [Кузнецова Н.П. и др., 1996].

Описаны также подходы к получению конъюгированных полиэтиленгликолем препаратов человеческого гемоглобина с высочайшим сродством к кислороду (p_{50} таких комплексов составляет 5,4 мм рт. ст.) [Tsai A. et al., 2003].

Резюмируя позитивные результаты поиска аллостерических модуляторов деоксигенации оксигемоглобина, следует, однако, подчеркнуть, что итоги этих исследований практически не нашли устойчивого применения в практике фармакотерапии кислороддефицитных состояний, в частности при регионарной ишемии тканей.

Исключение составляет все расширяющаяся практика клинического применения средств повышения кислородтранспорт-

ной эффективности гемоглобина препаратами из группы фибратов (RSR-13 и др.) по целому ряду жизненно важных показаний.

После открытия гиполипидемической активности клофибрата [ThorpJ., WaringW., 1962] и появления сопутствующей информации о его позитивном действии в клинической практике при коронарной недостаточности был предпринят ряд попыток анализа механизма этого ценного свойства препарата. Изучение данной проблемы стало стимулом для направленного синтеза ряда модификаций клофибрата, обладающих более выраженным действием на процессы деоксигенации оксигемоглобина.

В последние годы особое внимание исследователей привлекли аллостерические модуляторы СГК, близкие по структуре к безафибрату – RSR-13, зарегистрированный фирмой-производителем в Европе под названием “Эфапроксирал”, и RSR-4, содержащий фрагмент дихлоранилина вместо диметиланилина.

Влияние на СГК производных фибратов довольно детально изучено на молекулярном уровне [PapassotiriouI. et al., 1998], однако возможная связь гиполипидемической активности этих соединений с трансмембранной диффузией кислорода и сдвигами СГК не исследована. Аналогичная ситуация возникла и в связи с сообщением о позитивном влиянии симвастатина при острой коронарной недостаточности [DiNapoliP. et al., 1988]. Вместе с тем известны данные о влиянии некоторых элементов мембраны эритроцитов на СГК [ZhangY. et al., 2003] и участии мембранных липидов эритроцитов в холестеринном обмене [PastercampG. et al., 2002].

В литературе представлен целый ряд сообщений о роли некоторых соединений из группы фибратов как регуляторов СГК и эффективности их использовании при локальной гипоксии тканей. Так, в частности, RSR-13 вызывал в условиях клиники сдвиг p_{50} вправо в пределах 10 мм рт. ст. и положительную динамику стабильной стенокардии [VenitzJ. et al., 1999; WahrJ. et al., 2001], а в экспериментах на собаках наряду с увеличением p_{50} отмечено снижение регионального ацидоза и падения содержания макроэргов [MejiaM. et al., 1996; WoodsJ. et al., 1998; WeissR. et al., 1999]. Повышение p_{50} под влиянием RSR-13 не сопровождалось сдвигами ПОЛ при проведении экспериментальной терапии субдуральной гематомы в опытах на крысах [DoppenbergE. et al., 1999].

RSR-4 оказывал аналогичный эффект как в экспериментах, так и в условиях клиники [Papassotiriou I. et al., 1998]. Следует также отметить успешное применение RSR-13 в онкологии, связанное с повышением эффективности лучевой терапии за счет роста оксигенации гипоксической опухолевой ткани [Feldmann H. et al., 1999; Allos Therapeutics Inc., Schmidt E., 2000].

Обстоятельный анализ проблемы разработки аллостерических модуляторов гемоглобина и оценки их эффективности в клинико-фармакологических исследованиях приведен в обзоре Yonatan T. et al. [2002]. Сравнительно недавно было опубликовано сообщение об успешном использовании целенаправленно синтезированных аналогов 2,3-ДФГ в качестве аллостерических модуляторов СГК [Kassa T.W. et al., 2013]. Краткая сводка результатов более ранних исследований по поиску модуляторов СГК представлена в таблице 3.

Из этих данных следует, что фосфорные эфиры гексоз, триоз и фосфоенолпируват существенно снижают СГК. К этому же ряду следует отнести натрия ортоидбензоат и ингибитор карбоангидразы диакарб. В частности, данное соединение значительно уменьшает размеры зоны инфаркта и негативные функциональные сдвиги деятельности сердца при введении препарата до перевязки или в первые 15 минут после окклюзии коронарной артерии [Rude R. et al., 1983].

Таблица 3. – Влияние некоторых эндогенных и синтетических соединений на сродство гемоглобина к кислороду

Вещество	Доза или концентрация	Объект исследования	Сдвиг p_{50}	Автор
2,3-ДФГ	Возрастающие концентрации	Венозная кровь здоровых людей	Достоверное повышение	1
2,3-ДФГ, АТФ, инозин-гексафосфат	То же	Раствор гемоглобина крови человека	То же	2
L,D-2,3,ДФГ	То же	Раствор гемоглобина и гемолизат крови	Снижение времени деоксигенации	3
L,D-2,3-дифосфо-D,L-винная кислота	То же	То же	То же	

1,2-бис/фосфорил-окси/этан	То же	То же	То же	
О-йодбензоат	200-400-800 мкг/мин	Изолированное сердце собаки, перфузируемое кровью	Повышение с увеличением концентрации	4
		Электростимуляция сердца – 150, 190, 200 имп/мин	Достоверное повышение	
	200 мкг/кг в течение 5 мин.	Ишемия изолированного сердца	Достоверное повышение с инотропным эффектом	
Пиридоксаль-5-фосфат	100-120 мг/кг, п/к	Крысе подкожно	Повышение	5
Инозитолгексафосфат		Венозная кровь собаки	Повышение с $18,8 \pm 0,3$ до $47,1 \pm 1,7$	6
		Взвесь модифицированных эритроцитов	Повышение с $31,0 \pm 1,5$ до $38,8 \pm 2,1$	7
Феноксibenзамин	1 мг/кг в/в в течение 15 мин.	Венозная кровь собаки	Достоверное повышение	8
RSR-13		Изолированное сердце крыс, перфузируемое кровью	Повышение	9

Примечание: 1. Samaja M., Winslow R., 1979; 2. Goodford P. et al., 1978; 3. Эпштейн И.М. и др., 1984; 4. Gross G. et al., 1977; 5. Степуров И.И. и др., 1984; 6. Stucker O. et al., 1985; 7. Liard J. et al., 1993; 8. Watkins G. et al., 1976; 9. Woods J. et al., 1998.

При исследовании фармакологической коррекции СГК показана также важная роль феноксibenзамина в данном процессе, который рассматривается как медиатор регуляции аффинитета гемоглобина к кислороду [Watkins M. et al., 1978], и ряда других соединений этого типа действия.

1.5 Внутриэритроцитарная регуляция сродства гемоглобина к кислороду

Интегральное значение КТФ крови определяемое исходными кислородсвязывающими свойствами гемоглобина и действием клеточных эффекторов, позволяет обеспечить адаптацию организма к разным условиям гипоксии [Weber R.E., 2007]. КДО не является статичной функцией данной крови, а представляет собой динамический, маятниковый процесс смещения ее в ту и дру-

гую сторону, зависящей, помимо прочих факторов, от выраженности эффекта Вериги-Бора и влияния его основных компонентов – pH и CO_2 [Рябов Г.А., 1988].

Кислородсвязывающие свойства гемоглобина отвечают не только на изменения внешней концентрации O_2 , но и на присутствие в растворе ряда других веществ. Наличие Cl^- , CO_2 , органических фосфатов или H^+ оказывает большое влияние на КТФ гемоглобина. В нормальных условиях дыхания свойства гемоглобина в сосудистом русле не постоянны, а меняются по мере того, как эритроциты движутся с потоком крови из артерий в вены, от одного органа к другому [Иржак Л.И. и др., 1985]. КТФ крови есть результат комбинированного взаимодействия модулирующих факторов. Заключение в эритроцитах гемоглобин находится в специфическом окружении, которое модифицирует его основные свойства [Иржак Л.И., 1975]. В целом данная функция крови определяется кратко- и долгосрочными адаптационными механизмами, к первым относят внутриэритроцитарные модуляторы, ко вторым – генетически детерминированные механизмы изменения аминокислотной последовательности в молекуле гемоглобина [Weber R.E., 2007]. p_{50} отражает положение КДО на оси абсцисс при данном pO_2 в конкретных условиях, определяемых концентрацией H^+ , CO_2 в этом эритроците, содержанием 2,3-ДФГ в нем и ионным составом среды [Рябов Г.А., 1988].

Еще J. Barcroft, W.O.R. King [1909], G.S. Adair et al. [1921] в своих работах указывали на то, что КДО в растворе значительно смещена влево по сравнению с КДО в эритроцитах. Было показано, что это обусловлено наличием в эритроцитах различных факторов, и прежде всего – 2,3-ДФГ. Из всех факторов, определяющих смещение КДО (CO_2 , температура, 2,3-ДФГ и pH), именно углекислота представляется наиболее подвижным и изменчивым, регулярно изменяющимся фактором [Рябов Г.А., 1988]. Гемоглобин представляет собой не единое целое, а популяцию молекул, хотя и родственных по своей белковой последовательности, но структурно и химически разных и, соответственно, имеющих разную функциональную активность. Физиологические свойства гемоглобина определяются структурой белка и эффектами различных физико-химических факторов (pH , температура и концентрация кофакторов, изменяющих его связывание с

O₂) [KavanachB.D. et al., 2001]. Его адаптационные возможности зависят от гомотропных (кооперативности между связывающими O₂ гемовыми группами, определяющей S-образную форму кривой кислородного равновесия) и гетеротропных взаимодействий между гемами и участками, связывающими эффекторы. Данные аллостерические факторы изменяют СГК. Каждая фракция гемоглобина обладает своей спецификой, адаптивная ценность которой различна на разных участках сосудистого русла, тканей и органов, благодаря чему функцию переноса газов в организме выполняет гетерогенное семейство макромолекул, где каждый из участников процесса отличается от остальных физико-химическими и функциональными особенностями, вследствие чего присоединение и отдача кислорода и углекислого газа зависит от соотношения фракций гемоглобина, их вклада в общую функцию [Иржак Л.И., 1975].

В цикле окси/дезоксинации гемоглобина, и в целом для КТФ крови имеет важное значение его взаимодействие с полосой 3 в эритроцитарной мембране [DeRosaM.C. et al., 2008]. Кислородзависимое связывание гемоглобина с определенными локусами на мембране может регулировать гликолиз, а также через кислородчувствительные механизмы транспорта ионов влиять на эритроцитарный объем и внутриэритроцитарное значение pH [JensenF.B., 2004]. Якорной площадкой для комплекса ферментов гликолиза (гликолитического метаболона), формирующегося на внутренней поверхности мембраны эритроцитов, являются олигомеры интегрального мембраносвязанного белка полосы 3 (анионтранспортного механизма или AE1). Данный комплекс находится в равновесии со свободными ферментами, положение которого зависит от функционального состояния эритроцитов. Белок полосы 3 эритроцитарной мембраны, отвечающий за ее метаболические, ионнотранспортные и структурные функции, регулирует и кислородный статус этих клеток посредством взаимодействия с дезоксигемоглобином (но не его оксиформой), изменяя кислородсвязывающие свойства крови [ChuH.etal., 2008]. Полоса 3 мембраны эритроцитов регулирует связывания CO₂ и высвобождение O₂ из гемоглобина [DeRosaM.C. et al., 2008].

В целом состояние кислородсвязывающих свойств есть результат действия многих факторов и каждый из них имеет опре-

деленную роль. Как известно, $p50$ для гемоглобина в чистом растворе составляет примерно 16-18 мм рт.ст., а для внутриэритроцитарного гемоглобина – почти в 1,5-2 раза больше. КТФ крови есть результат модулирующего действия различных аллостерических эффекторов, таких как H^+ , Cl^- , CO_2 , органические фосфаты и др., обеспечивающих адаптацию к гипоксической гипоксии [Storz J.F., Moriyama H., 2008; Numoto N. et al., 2008]. СГК определяется в значительной степени аллостерическим взаимодействием между гемоглобином и разными физиологическими модуляторами (H^+ , 2,3-ДФГ, CO_2 и др.) [Иржак Л.И., 1975], которые в совокупности на уровне клеточного компартмента крови образуют внутриэритроцитарную систему регуляции её кислородсвязывающих свойств (рис. 10).

(2,3-ДФГ, H^+ , Cl^- , t, O_2 , CO_2 , CO...)

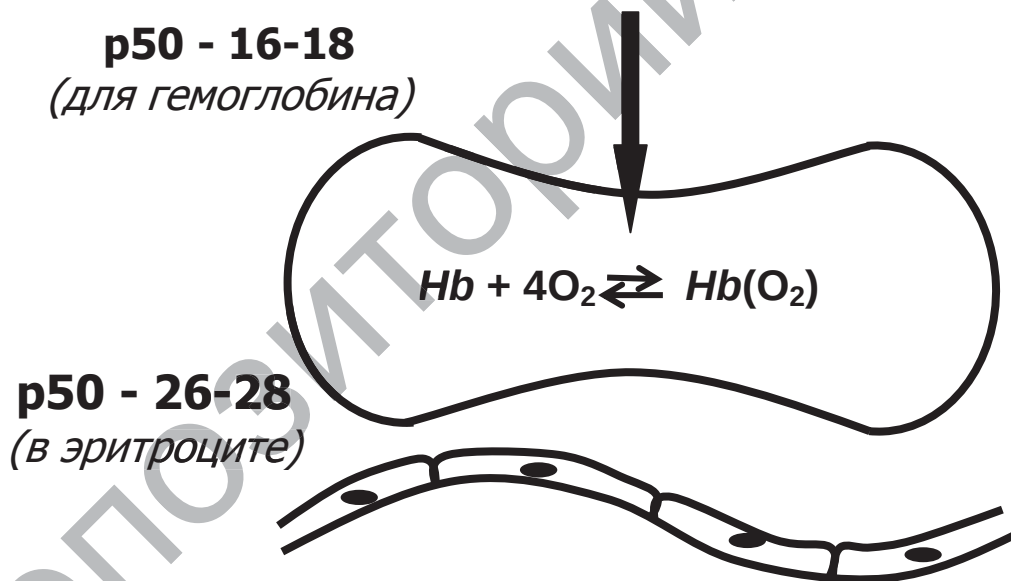


Рисунок 10. – Внутриэритроцитарная система регуляции кислородсвязывающих свойств крови

Данная система осуществляет регуляцию свойств гемоглобина и демонстрирует зависимость от метаболических процессов в эритроцитах, что с учетом скоростей биохимических реакций предполагает относительно быстрые изменения кислородсвязывающих свойств крови в ответ на внешние возмущения [Борисюк

М. В., 1983, 1984]. По мнению ряда авторов, кислородсвязывающие свойства гемоглобина у собак и кошек, судя по более высоким значениям стандартного p_{50} ($30,0 \pm 1,3$ и $34,1 \pm 1,8$ мм рт. ст.), позволяют им лучше адаптировать кислородное обеспечение организма, чем у человека [Cambier C. et al., 2004]. Через данный внутриэритроцитарный механизм положение КДО может значительно изменяться в зависимости от потребностей организма в кислороде.

Аллостерические эффекторы управления R-/T- конформацией гемоглобина обеспечивают формирование кислородсвязывающих свойств крови в широком физиологическом диапазоне в соответствии с потребностями организма [Bonaventura C. et al., 2004]. Благодаря действию факторов микросреды создаются условия динамики свойств гемоглобина во время циркуляции в сосудистом русле, что формирует его определенную конформацию с более или менее высоким сродством к кислороду (явления естественной иммобилизации гемоглобина) [Иржак Л.И. и др., 1985].

Следует отметить, что при оценке p_{50} может возникнуть ситуация, когда изменения данного показателя не выявляются, что возможно при выраженных противоположно направленных, взаимно компенсирующих сдвигах факторов [Рябов Г. А., 1988], в частности при дефиците 2,3-ДФГ, компенсируемом кислой реакцией среды эритроцита, уровень p_{50} остается стабильным, однако это не означает, что КТФ крови при подобном сочетании взаимодействующих факторов нужно признать нормальной.

Внутриэритроцитарная автономная система обеспечивает адаптивное поведение кислородсвязывающих свойств крови при перестройке характера ее функционирования, в целом всей системы транспорта кислорода на разных ее уровнях. В реальных условиях организма действие этих модуляторов обуславливает иное SGK, что особо важно для обеспечения адекватного кислородного потока в ткани и может быть использовано для разработки основных путей коррекции кислородного дефицита.

Активность синтезирующих 2,3-ДФГ ферментов зависит от степени деоксигенации Hb, что демонстрирует работу автономного контура саморегуляции SGK, функционирующего на уровне клетки по принципу положительной обратной связи (рис. 11).

Поступление в кровь недоокисленных продуктов, CO_2 , уменьшение $p\text{H}$ приводит к большей деоксигенации гемоглобина Hb, уменьшению количества свободного 2,3-ДФГ и активации синтеза 2,3-ДФГ, который, в свою очередь, снижает СГК.

Влияние протонов на функциональные свойства гемоглобина в эритроцитах определяется не только эффектом Вериги-Бора, который проявляется в изоосмических растворах. Изменяется также сродство восстановленного гемоглобина к 2,3-ДФГ, степень выраженности гликолитических процессов в эритроцитах и активность ферментов цикла Рапопорта-Люберинга, что опосредует обратную связь между степенью удовлетворения тканей в кислороде и кислородсвязывающими свойствами крови. Важно отметить, что одно и то же изменение кислотности внутриэритроцитарной среды разнонаправленно влияет на состояние названных звеньев регуляции СГК. Снижение $p\text{H}$ уменьшает СГК за счет эффекта Вериги-Бора и способствует повышению количества восстановленного гемоглобина, увеличивает его аффинитет к 2,3-ДФГ и в то же время ингибирует гликолиз в целом и 2,3-дифосфоглицератмутазную реакцию. Это способствует стабилизации СГК на уровне, близком к оптимальному, при условии последующей коррекции $p\text{H}$ уже внеэритроцитарными системными механизмами. Экстренная коррекция кислородного режима тканей путем повышения деоксигенации крови за счет уменьшения $p\text{H}$ может быть только кратковременной.

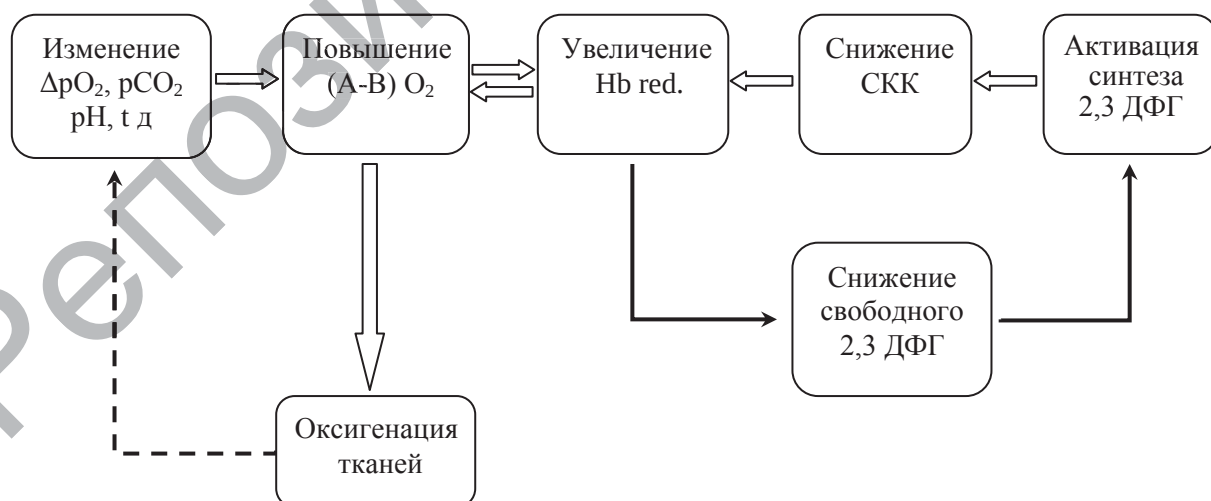


Рисунок 11.— Схема, иллюстрирующая относительность автономной внутриэритроцитарной системы регуляции сродства гемоглобина к кислороду под действием внешних возмущений [Борисюк М.В., 1983]

В то же время внутриэритроцитарные механизмы регуляции СГК сами по себе не могут обеспечить длительную стабилизацию этих свойств крови и адаптивное ее поведение при формировании КТФ.

Процесс оксигенации крови в альвеолярных капиллярах, образование HbO_2 , выведение CO_2 являются пусковыми стимулами для возвращения системы в исходное состояние, предупреждая ее "разнос" и демонстрируя относительность автономности регуляции СГК. Основные модуляторы свойств гемоглобина в контуре внутриэритроцитарной системы регуляции свойств гемоглобина выполняют функции триггера аллостерической регуляции. Несмотря на генетическую детерминированность свойств Hb могут значительно адаптироваться к реальным условиям циркуляции вследствие изменения состояния эритроцитов, их энергетического и метаболического статуса. Более корректно использовать понятие сродства как химического термина не к отдельной составной части эритроцитов – гемоглобину, а к крови в целом.

Особенности регионарной циркуляции крови при одном и том же сродстве циркулирующей артериальной крови определяют необходимость избирательной регуляции деоксигенации крови в отдельных органах. Это приводит к различному возмущению метаболизма в эритроцитах, разной степени активности синтеза 2,3-ДФГ и к формированию разного СГК, оттекающей от отдельных органов. Наименьшее СГК определяется в крови, оттекающей от сердца ($p_{50} - 33,7$ мм рт. ст. при p_{50} смешанной крови, равной $29,0$ мм рт. ст.), в связи с чем сродство смешанной венозной крови к кислороду является интегральным показателем, обусловленным разным сродством отдельных фракций крови, оттекающей от разных органов [Борисюк М.В., 1983].

При гипоксии, как правило, отмечается адаптивное снижение СГК, способствующее поддержанию кислородного режима тканей, что указывает на наличие функциональной зависимости СГК от состояния свойств кардиоваскулярного аппарата, определяющих величину кровяного давления и объемный кровоток, а также от КЕК. Существуют функциональные взаимоотношения между отдельными подсистемами в системе транспорта кислорода. В частности, "взаимосодействие" системной организации механизмов регуляции СГК [Борисюк М.В., 1983]. При изменении

кислородсвязывающих свойств крови, особенно при увеличении энергозатрат, складываются иные взаимоотношения, определяющие, как правило, более низкий адаптивный уровень функционирования системы транспорта кислорода.

Механизм межфункциональных взаимоотношений в системе транспорта кислорода, основанный на нервной и гуморальной регуляции, функциональных свойств в соответствии с функциональными особенностями отдельных органов, их энергообменом обуславливают разную степень возмущения автономной системы регуляции свойств гемоглобина и обменных процессов в эритроцитах. КТФ крови обладает большим резервом изменения в содержании кислорода и его отдачи. Если сравнить артериовенозную разницу по кислороду крови, оттекающей от сердца и почки, то отмечаются существенные возможности крови в способности отдавать кислород, изменять оксигенацию тканей. Важно, что это достигается достаточно мобильно и без больших энергозатрат, в сравнении с кровообращением.

Данная система осуществляет регуляцию свойств гемоглобина и демонстрирует зависимость от метаболических процессов в эритроцитах, что с учетом скоростей биохимических реакций предполагает относительно быстрые изменения кислородсвязывающих свойств крови в ответ на внешние возмущения [Борисюк М.В., 1983]. Через данный внутриэритроцитарный механизм положение КДО может значительно изменяться в зависимости от потребностей организма в кислороде (рис.12). В крови циркулирует пул различных NO-производных, обеспечивающих биоактивность NO, в разных редокс-условиях. Эритроцитарная NO-синтаза может обеспечивать сосудорасширяющее действие в прилегающих к сосудам регионам в условиях гипоксии. Образование NO и его производных осуществляется во всех форменных клетках крови, но с разной активностью. Синтез NO внутри эритроцита, с одной стороны, может обеспечивать компенсаторную ловушку NO, а с другой, – механизм поддержания эффективной внутриклеточной сигнализации [Cortese-Krott M.M., Kelm M., 2014].

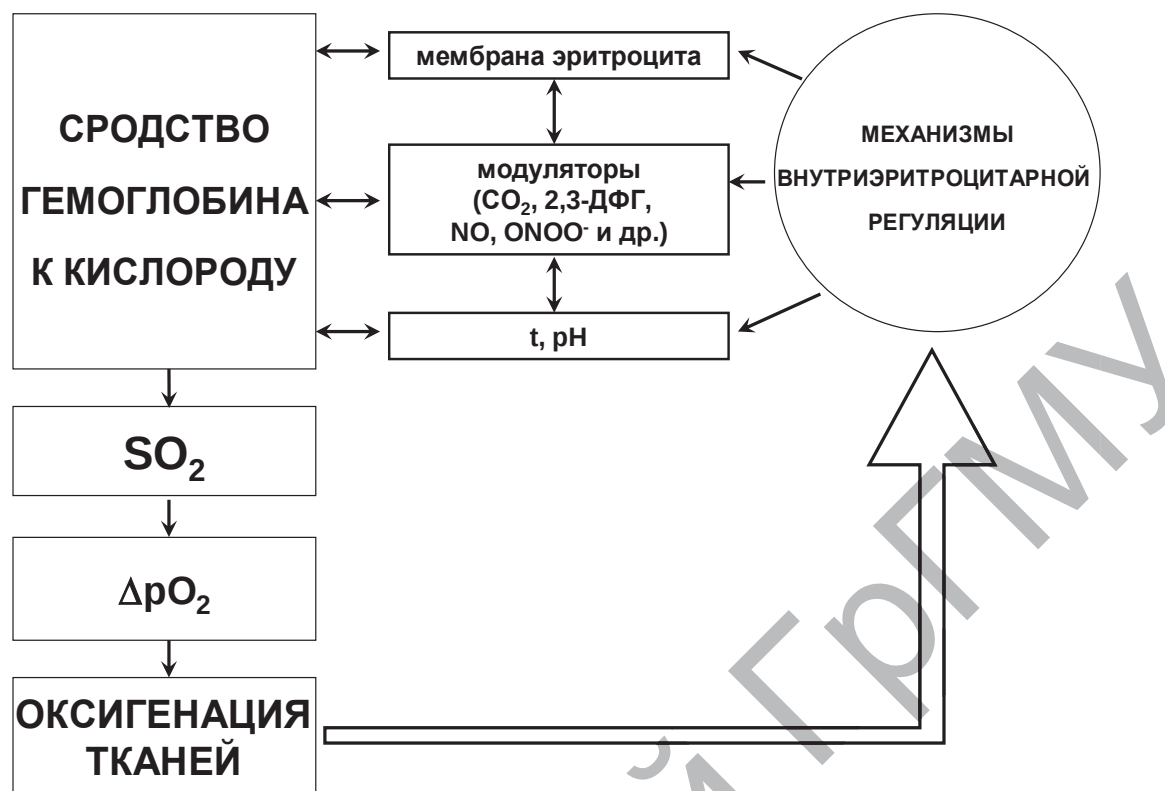


Рисунок 12. –Участие внутриэритроцитарных механизмов регуляции сродства гемоглобина к кислороду в кислородном обеспечении тканей [Зинчук В.В., Степура Т.Л., 2013]

Процесс адаптации к гипоксии, направленный на поддержание кислородного гомеостаза организма, реализуется за счет сложнейшей системы межклеточных сигнальных взаимодействий, последовательно вовлекающихся на разных стадиях процесса [Лукьянова Л.Д. и др., 2011]. Анализ особенностей регуляции свойств гемоглобина демонстрирует зависимость его сродства от метаболических процессов в эритроцитах, что с учетом скоростей биохимических реакций предполагает относительно быстрые изменения кислородсвязывающих свойств крови в ответ на внешние возмущения, но в тоже время эти механизмы регуляции СГК, их ресурсы ограничены и не могут обеспечить длительно адаптивное поведение крови.

1.6 Кривая диссоциации оксигемоглобина: физиологическое значение ее сдвигов

Традиционно полагают, что уменьшение СГК, сдвиг КДО вправо повышает отдачу кислорода кровью тканям на уровне капилляров большого круга кровообращения (рис.13). Увеличение p_{50} на 1 мм рт.ст. повышает артериовенозную разницу pO_2 на 3,2 мм рт.ст., что увеличивает оксигенацию тканей, а сердечный выброс при этой неизменной доставке O_2 , снижается на 5,8% на единицу изменения p_{50} [Samaja M. et al., 2003].

При перфузии изолированного кроличьего сердца кровью с разным СГК наблюдалось повышение (на 30%) потребления кислорода за счет увеличения p_{50} с 16,9 мм рт.ст. до 32,6 [Apstein C.S. et al., 1985]. При гемической гипоксии сдвиг КДО вправо, вызванный усилением синтеза 2,3-ДФГ в эритроцитах (Δp_{50} – 2,5 мм рт.ст.), увеличивал количество поступающего в ткани кислорода на 15% [Дмитриева М.Г. и др., 1994]. В исследованиях на поросятах с применением инозингексафосфата, увеличивавшего p_{50} на 20%, потребление кислорода возрастало по сравнению с контролем с 4,3 до 6,02 мл/мин [Deleuze P.H. et al., 1992]. В опытах на крысах при повышении p_{50} на 25% наблюдалось возрастание тканевого pO_2 в среднем на 78% [Khandelwal S.R. et al., 1993]. В хронических экспериментах на собаках увеличение p_{50} с 31 до 38,8 мм рт.ст. при обработке инозитгексафосфатом не приводило к росту потребления кислорода на фоне снижения сердечного выброса [Liard J.F., Kunert M.P., 1993].

Наблюдается увеличение pO_2 в тканях и потребления O_2 у хомячков после 80% замены объема циркулирующей крови искусственным кровезаменителем, основанным на полимеризованном гемоглобине с более высоким значением p_{50} (54,2 мм рт.ст.) [Cabrales P. et al., 2004]. Пребывание добровольцев в условиях, подобных Эвересту (pO_2 – 282 мм рт.ст.) в течение 42 суток увеличивало значение $p_{50_{\text{станд}}}$ с 28,2 до 33,1 мм рт.ст., что приводило к уменьшению SO_2 в артериальной и венозной крови на 8,4 и 17,4%, соответственно, но увеличивало экстракцию O_2 на 7,9% [Wagner P.D. et al., 2007]. Применение аллостерического регулятора СГК миоинозитол трифосфата, дозависимо увеличивавшего p_{50} на 22 и 37% при дозах 1 и 2 г/кг, повышает способность к

выполнению физических нагрузок на $57 \pm 13\%$ ($p=0,002$) у обычных и на $63 \pm 7\%$ ($p=0,005$) у трансгенных мышей с тяжелой сердечной недостаточностью при максимальном изменении SGK [BioloA. et al., 2009]. Важно отметить, что пероральное введение миоинозитол трифосфата через 3 суток, уменьшавший SGK на 37%, приводило к уменьшению уровня мРНК ГИФ-1 в миокарде с $5,5 \pm 1,4$ до $1,7 \pm 0,6$ усл. единиц ($p=0,06$) у мышей [BioloA. et al., 2009].

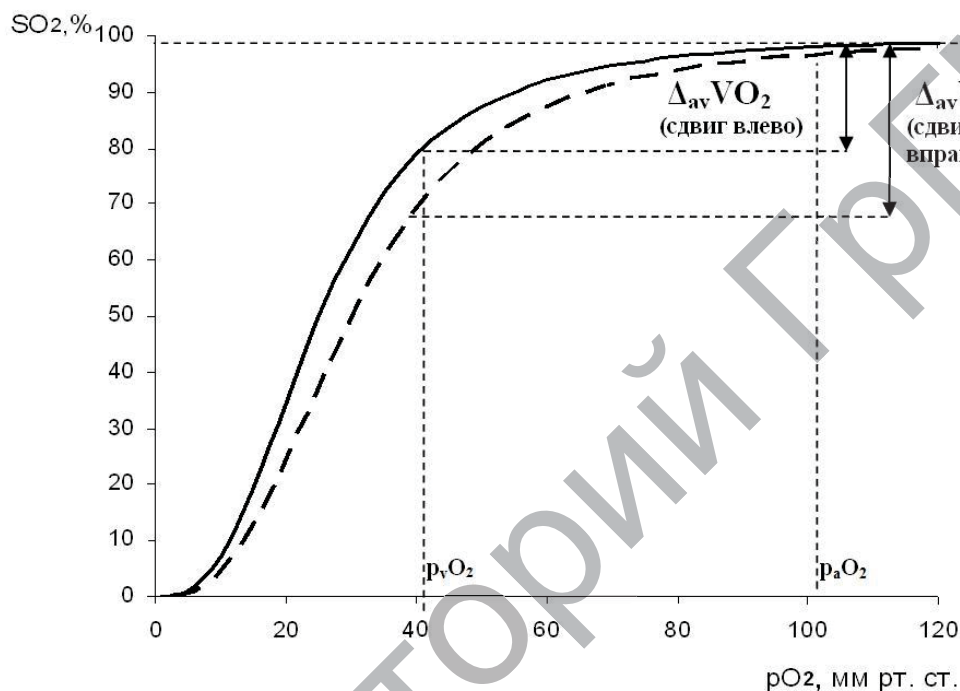


Рисунок 13.— Значение сдвига кривой диссоциации оксигемоглобина влево (—) и вправо (---) для оксигенации тканей в обычных условиях

Однако снижение SGK не всегда обладает явным эффектом по улучшению оксигенации тканей. Использование модификатора SGK, сдвигающего КДО вправо ($p50=16,9 \pm 3,5$ и $40,4 \pm 1,7$ при температуре $30,0$ и $37,5^{\circ}\text{C}$, соответственно) не уменьшал размеры возникающего инфаркта при ишемии головного мозга крыс при гипотермии [WainwrightM.S. et al., 2002]. Сдвиг КДО вправо ($p50$ возрастал с $36,6 \pm 0,3$ до $48,3 \pm 0,6$ мм рт.ст.) не давал существенного улучшения тканевого метаболизма в условиях глубокой анемии [EichelbronnerO. et al., 2002]. В тоже время его использование при гипотермической кардиоплегии улучшает восстановление механической и метаболической функции миокарда, снижает проявление окислительного стресса [KilgoreK.S. et al., 1999].

Снижение СГК до начала моделирования субдуральной гематомы у крыс в нормоксических и гипероксических условиях снижает уровень 2,3-дигидроксибензойной кислоты, образуемой из салицилата после обработки ОН* в сравнении с контролем, но данный эффект не отмечался при модификации СГК в постишемический период [Dorpenberg E.M. et al., 1999]. Максимальный подъем $p50$ не обеспечивает снижение кратковременной очаговой ишемии мозга у крыс, его благоприятный эффект может быть только в сочетании с другими нейропротекторными эффектами [Sarraf-Yazdi S. et al., 1999].

Уменьшение СГК, являющееся наиболее важным фактором компенсации кислородной недостаточности при различных патологических состояниях, лежит в основе процессов адаптации к гипоксии. По-видимому, увеличение $p50$ выше физиологических значений благоприятствует оптимальному транспорту кислорода к тканям преимущественно в условиях нормоксии или умеренной гипоксии. Вопрос о физиологическом значении сдвига КДО влево для оксигенации тканей окончательно не выяснен, несмотря на большое число исследований, посвященных этой проблеме. Известно, что повышение СГК затрудняет десатурацию крови в микроциркуляторном русле. При повышении СГК у крыс наблюдается ухудшение работоспособности [Woodson R. D. et al., 1973], уменьшение (почти вдвое) продолжительности толерантной фазы геморрагического шока и более высокая степень летальности животных в сравнении с контролем [Malmberg P.O. et al., 1979; Collins J.A., Stechenberg L., 1979].

Наизолированной *m. gastrocnemius* собак *in situ*, перфузированной нормальной кровью или обработанной цианатом натрия, ($p50=32,1$ и $23,2$ мм рт. ст., соответственно), наблюдалось снижение поступления кислорода в ткань на 17% [Hogan M.C. et al., 1991]. У собак с $p50=23$ мм рт. ст. (в контроле 32) при незначительных различиях конвективного транспорта кислорода отмечается значительно меньшее потребление кислорода тканью миокарда [Baer R.W., 1992]. При вдыхании СО в течение 60 мин. величина $p50$ снижалась на 22% по отношению к контролю, что в совокупности с уменьшением перфузии снижало доставку кислорода в ткань на 38% от исходного значения [Grau C. et al., 1994]. При перфузии изолированной *m. gracilis* собак высокоаффинной

к кислороду кровью в условиях субмаксимальных нагрузок показана меньшая, чем при перфузии нормальной кровью, доставка кислорода в ткани, не компенсируемая усилением кровотока [Kohzuki H. et al., 1994].

При циркуляторной гипоксии пониженное СГК перфузируемой крови уменьшало "критическое pO_2 " (pO_2 , при котором потребление кислорода начинает зависеть от его доставки) с 33 до 19 мм рт. ст. в сравнении с перфузией нормальной кровью, не влияя на поступление кислорода, на максимальный коэффициент кислородной экстракции [Kohzuki H. et al., 1993]. При перфузии изолированного сердца кроликов растворами гемоглобина с $p50$ 12 (в контроле 30 мм рт. ст.) потребление кислорода тканями снижалось на 36% [McDonald V.W., Winslow R.M., 1992]. Доставка кислорода в ткани из циркулирующей крови при операциях на сердце с $p50$ 31,1 и 20,3 мм рт. ст. уменьшалась на 30% [Matsuzaki K. et al., 1993]. В опытах по моделированию СГК (путем использования инозитолгексофосфата и 5 гидроксиметил-2-фурфурала, изменяющих $p50$ от 10 до 50 мм рт.ст.) наблюдалось несоответствие между тканевым pO_2 и его потреблением и доставкой в ткани в условиях острой анемии [Cabrales P. et al., 2008].

В тоже время есть данные о том, что сдвиг КДО влево может иметь благоприятный эффект для организма. Так, реанимационные мероприятия после геморрагического шока у бодрствующих хомяков, включавшие использование кровезаменителя с гемоглобином, модифицированным полиэтиленгликолем ($p50=5,5$ мм рт.ст.), улучшали кровоток и микроциркуляцию [Wettstein R. et al., 2003]. Ишемия головного мозга у низкорезистентных к ней крыс Вистар, вызванная окклюзией общих сонных артерий, в острейшем периоде повышает СГК в среднем на 12% относительно нормальных значений, также как и эмоциональный стресс, определяя последующее развитие ишемии головного мозга: прирост до 25% обеспечивает его дальнейшее повышение, а свыше 25% – значительное снижение в результате деоксигенации гемоглобина [Конорова И.Л. и др., 2007]. Трансфузия рекомбинантного полимерного гемоглобина с низким $p50$ (3 и 18 мм рт.ст.) уменьшает объем поражения при экспериментальном инсульте [Koehler R.C. et al., 2008]. Использование гемоглобина,

инкапсулированного в липосомы с высоким ($p50 = 10$ мм рт.ст.) и низким ($p50 = 45$ мм рт.ст.)

В опытах на крысах установлено, что при гипоксической гипоксии (атмосферное давление 380 мм рт. ст.) вызываемый бикарбонатом рост СГК улучшает захват кислорода в лёгких, не нарушая его высвобождения в тканях, что целесообразно для гипоксических состояний [Gonzales N.C., Clancy R.L., 1992]. Известны положительные эффекты сдвига КДО влево, обусловленные различными факторами, при терапии онкологических заболеваний [Hu J.J. et al., 1990; Kalra R. et al., 1994]. О благоприятном влиянии смещения КДО влево на выживаемость животных, находящихся в условиях выраженной высотной гипоксии, свидетельствуют работы J.W. Eaton [1974], Z. Turek et al. [1978]. Согласно данным экспериментальных работ, у собак с низким $p50$ наблюдается улучшение транспорта кислорода и насыщения артериальной крови в гипоксических условиях, в то время как в условиях нормоксии кислородное обеспечение тканей ухудшается и, соответственно, работоспособность снижается [Schumacker P.T. et al., 1985].

Оценка кислородного снабжения скелетной мышцы на модели Крога показывает, что при увеличении $p50$ с 26 до 39 мм рт.ст. потребление O_2 возрастает на 7% и 1% при pO_2 в атмосфере 39 и 53 мм рт. ст., соответственно, а при уменьшении $p50$ до 20,8 мм рт.ст. в условиях гипоксии (при $pO_2=40$ мм рт.ст.) возрастает на 51% [McGuire B.J., Secomb T.W., 2004]. Те же явления отмечались при системной гипоксии: при нормальном СГК в условиях кислородной недостаточности поток кислорода через капиллярную сеть снижался на 13,3%, при повышенном – на 11,0% [Stein J.C., Ellsworth M.L., 1992]. Согласно данным этих исследователей, повышенное СГК не даёт очевидных преимуществ для транспорта кислорода на уровне капиллярной сети в поперечно-полосатых мышцах, однако такое преимущество может стать очевидным при повышенной скорости метаболизма или более тяжёлой гипоксии. У крыс с повышенным СГК (за счет использования $NaOCNp50$ изменялся с 30 до 24 мм рт.ст.) отмечался более высокий коэффициент экстракции O_2 в условиях гипоксии, а в гипероксической среде – меньшая скорость метаболизма, меньшее значение pO_2 венозной крови и снижение показателей централь-

ной гемодинамики, что, возможно, обусловлено адаптивными реакциями, развивающимися при длительной тканевой гипоксии [TakiJi. et al., 1999].

Как видим, смещение КДО влево при выраженной гипоксической гипоксии улучшает транспорт кислорода в ткани организма (рис.14). Данный сдвиг следует рассматривать как адаптивную реакцию организма к физическим нагрузкам в условиях кислородной недостаточности. Такая значимость изменения СГК отражает необходимость организма приспосабливаться к постоянно меняющимся потребностям тканей в кислороде, степенью развивающейся гипоксии и выраженностью реакции адаптации к ней.

Однако вопрос о физиологическом значении изменения СГК либо сдвига КДО остается еще недостаточно выясненным [Kobayashi H. et al., 1991; Wagner P.D. et al., 2007]. В условиях целостного организма направленность сдвига КДО находится в тесной взаимосвязи с другими компонентами системы транспорта кислорода. Ретрансфузия крови с повышенной способностью к высвобождению кислорода сопровождается компенсаторным снижением эффективности функционирования сердечно-сосудистой системы [Villereal M.C. et al., 1987], уменьшением общего кровотока и числа функционирующих капилляров, снижением периферического сосудистого сопротивления, мобилизацией тканевых капилляров [Teisseire B.P. et al., 1984], увеличением капиллярной поверхности на единицу объема ткани [Juarbe G., Sillan A.H., 1988]. Недостаточность этих компенсаторных реакций может привести к возникновению гипоксии. Изменение работы сердечно-сосудистого аппарата в ответ на повышение или снижение механизмов системы транспорта кислорода является результатом реализации межфункциональных взаимоотношений, направленных на достижение полезного приспособительного результата данной системы, которым является количество кислорода, адекватное потребностям энергообмена [Борисюк М.В., 1984].

СГК в значительной степени определяет перенос O_2 на уровне капилляра, что подтверждается соответствующими расчетами на математической модели при разных условиях [Brighenti C. et al., 2003]. Согласно классическим представлениям, сточки зрения массопереноса сдвиг КДО вправо способствует

росту поступления O_2 из крови в ткани, влево – наоборот. В клинической практике представление о КДО не столь широко используется, возможно, потому, что диссоциация оксигемоглобина представляется стабильным процессом, изменение которого (т.е. срыв компенсации) немедленно приводит к невозможности оксигенации в организме [Рябов Г.А., 1988].

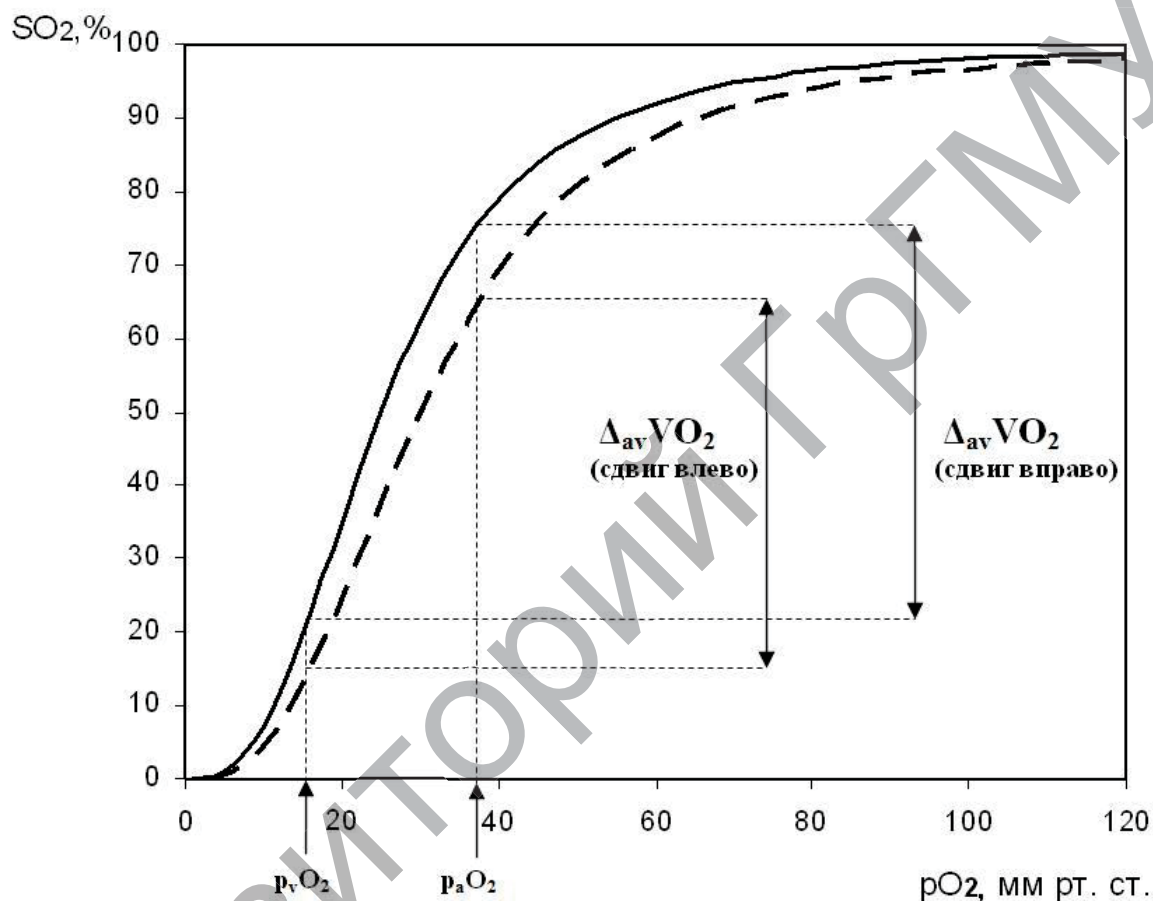


Рисунок 14. – Значение сдвига кривой диссоциации оксигемоглобина влево (—) и вправо (---) для оксигенации тканей в условиях выраженной гипоксии

Однако в ряде случаев этот подход механистически переносят на условия целостного организма. В организме в условиях гипоксии доставка O_2 в ткани осуществляется путем изменения тонких механизмов регуляции СГК, даже малые сдвиги которого способны максимально увеличить артериовенозную разницу по O_2 и оптимизировать его транспорт в ткани, поддерживая относительно низкую нагрузку на гемодинамику [SamajaM. et al., 2003].

Выявлен определенный физиологический диапазон, в рамках которого СГК играет адаптационную антиоксидантную роль

при острой ишемии головного мозга, границы последнего зависят от индивидуальной резистентности (выход за верхнюю границу этого диапазона является одним из патогенетических факторов развития осложнений после перенесенного эмоционального или другого стресса, ведущих к летальности от ишемии мозга) [Конорова И.Л. и др., 2007]. Показана эффективность основанных на гемоглобине носителей кислорода со сниженным $p50$ (повышенным сродством к O_2) как средств направленной доставки O_2 в ишемизированную ткань, что даёт основание для разработки и оптимизации носителей O_2 , и предполагает возможное использование гемоглобина для коррекций различных гипоксий [Sakai H. et al., 2005].

Сдвиг КДО вправо при снижении pO_2 в крови можно расценивать как попытку организма компенсировать кислородную недостаточность, но в условиях окислительного стресса, когда нарушена утилизация кислорода тканями и значительная его часть используется в оксигеназных реакциях, ведущих к образованию активных форм кислорода, это приводит к активации процессов свободнорадикального окисления. Увеличение $p50$ способствует росту потока кислорода в ткани в условиях нормоксии или умеренной гипоксии, в тоже время его уменьшение может иметь благоприятное значение, обладая антиоксидантным эффектом в условиях нарушенной утилизации кислорода тканями.

КДО является важным механизмом, определяющим доставку кислорода в ткани. Однако этим значением СГК в организме не ограничиваются. Samaia M. [2003] приводит подробные данные об эффекте разного СГК на ряд физиологических процессов и состояний. Гипоксическая вентиляция организма достаточно тесно взаимосвязана с СГК (происходит сдвиг КДО влево) [Boggs D.F. et al., 1999]. Известен эффект ДНК на КТФ крови [Konogova I.L. et al., 2008]. В данном аспекте интересно отметить, что инкубация крови с спинномозговой жидкостью повышает СГК ($p50$ уменьшался с $27,7 \pm 1,1$ до $20,6 \pm 2,1$ мм рт.ст.), что, по-видимому, обусловлено действием низкомолекулярных лигандов, а также молекулы воды на ионогенные молекулы гемоглобина [Иржак Л.И., Лощинский Ю.В., 1993]. Выявлен эффект CO_2 -пневмоперитонеума на механизмы транспорта кислорода кровью, в частности у кроликов [Mynbaev O.A. et al., 2008]. В связи с

этим важно отметить, что у пациентов с полицитемией наблюдается более низкое значение $p50$ (18 мм рт.ст.) [Agarwal N. et al., 2007]. У трансгенных мышей с чрезмерной экспрессией эритропоэтина (концентрация гемоглобина $24,4 \pm 4,5$ в сравнении с контролем $14,1 \pm 2,3$ г/дл) наблюдался сдвиг КДО вправо ($p50 = 51$ и 44 мм рт.ст., соответственно) при снижении 2,3-ДФГ, что, однако, не увеличивало тканевую оксигенацию, и, возможно, связано с увеличением гематокрита и вязкости крови [Frietsch T. et al., 2007]. В механизмах снижения доставки O_2 в условиях острой анемии играет роль ухудшение ДЭ, создаваемое путем обработки глютаровым альдегидом и сопровождающееся снижением СГК ($p50 = 29,3$, а в контроле – $32,0$ мм рт.ст.), что отражает непосредственную связь между микрореологическими и кислородсвязывающими свойствами крови [Cabrales P., 2007].

Выявлены возрастные особенности компенсации гипоксии путем усиления диссоциации оксигемоглобина, проявляющейся в сдвиге КДО вправо ($p50 = 28,1 \pm 0,6$ в старческом возрасте в сравнении с молодыми лицами – $26,6 \pm 0,3$ мм рт.ст., $p < 0,05$) и достигаемое за счет подкисления внутриэритроцитарной среды, а не изменение уровня 2,3-ДФГ [Коркушко О.В., Писарук А.В., 1993]. В тоже время показано, что более старые возрастные фракции эритроцитов у мужчин в возрасте 21-34 года имеют более низкое значение $p50$ в сравнении с более молодыми ($23,4 \pm 2,8$ и $29,2 \pm 3,3$ при значении этого параметра для общего образца крови $27,0 \pm 2,7$ мм рт.ст.), обусловленное усилением эффекта Вериги-Бора и ростом 2,3-ДФГ [Schmidt W. et al., 1987]. Повышение СГК у женщин по сравнению с мужчинами является адаптивной реакцией организма, связанной с необходимостью усиления доставки кислорода в ткани [Samaia M. et al., 1991]. В разные фазы полового цикла происходят изменения СГК у крыс: максимальное его значение отмечается в фазах менструации и проэструса, а наименьшее – в постовуляторный период, что в динамике полового цикла обусловлено колебанием эстрадиола и прогестерона, pCO_2 , pH , температуры и концентрации 2,3-ДФГ в эритроцитах [Балбатун О.А., Жмакин И.К., 1996].

ДискуSSIONируется вопрос о сдвиге КДО вправо и увеличение 2,3-ДФГ при синдроме апноэ во сне [Clause D. et al., 2008]. Показано, что ультрафиолетовое облучение (240-390 нм) крови в дозах

(1,51-6,04) 10^2 Дж/м² в присутствии серотонина (10^{-4} моль) вызывает увеличение СГК (с $19,63 \pm 0,99$ до $11,4 \pm 1,41$ мм рт.ст.), которое не изменяется при возрастании дозы облучения в указанном интервале; выявлено также, что серотонин оказывает фотозащитное действие по отношению к КТФ гемопротеида [Артюхов В.Г., Вашанов Г.А., 1993]. Синтетический аллостерический модификатор гемоглобина эфапроксирал (RSR13), сдвигающий КДО вправо, улучшает восстановление механической и метаболической функции миокарда после операций у собак с гипотермическим экстракорпоральным кровообращением [Kilgore K.S. et al., 1999]. Сдвиг КДО вправо обладал защитным действием на миокард после ишемии (на уровень макроэргических фосфатов, механическую функцию) в условиях низкого кровотока [Woods J.A. et al., 1998]. Фетальный гемоглобин при 37°C в присутствии 2,3-ДФГ имеет большее сродство к кислороду, чем гемоглобин взрослых, что важно для улучшения переноса кислорода от матери к плоду [Giardina B. et al., 1993]. У альпинистов в условиях высокогорья p_{50} в ходе акклиматизации возрастает вследствие как повышения уровня 2,3-ДФГ, АТФ и Mg^{2+} , так и снижения концентрации хлоридов в эритроцитах [Mairbaurl H. et al., 1993]. Уменьшение СГК при введении синтетического модификатора кислорода связывающих свойств крови улучшает способность выполнять физические нагрузки у мышей с хронической сердечной недостаточностью [Watanabe T. et al., 2008]. Модификация СГК путем введения внутриэритроцитарных аллостерических эффекторов показывает, что при геморрагическом шоке у крыс с низким p_{50} значения pO_2 в тканях, венозной крови были выше, чем у животных с высоким p_{50} [Villela N.R. et al., 2008]. СГК у мышей может контролировать уровень эритропоэза, тканевое потребление O_2 , физическую активность и поведенческие реакции, у животных, имеющих низкоаффинный гемоглобин с соответствующей мутацией гена ($p_{50} = 66,0$ и $72,0$ мм рт.ст.), способность совершать физическую работу была вдвое выше [Shirasawa T. et al., 2003].

Таким образом, приведенные исследования свидетельствуют о том, что существует сложная организация механизмов регуляции СГК.

1.7 Влияние эритропоэтина на механизмы транспорта кислорода кровью

Гипоксия индуцирует экспрессию ряда генов, отвечающих за образование ряда факторов, которые в свою очередь обеспечивают усиление процессов васкуляризации, образование эритроцитов, сужение сосудов, а в конечном итоге способствуют поддержанию кислородного гомеостаза. Одним из триггерных механизмов ответа клеток на гипоксическое воздействие является геном-опосредованное инициирование продукции эритропоэтина (ЭПО), который является гормоном, участвующим в регуляции эритропоэза. Он представляет собой гликопротеин (количество углеводов составляет 40%), включающий цепь из 165 аминокислот и карбоангидратной части, состоящей из одной О- и трёх N-связанных олигосахаридов, на концах которых располагаются сиаловые кислоты [Jelkmann W., 2004]. Кислородтранспортная функция крови обеспечивает адаптивные процессы к гипоксии через долгосрочные (изменения количества эритроцитов, вызванные эритропоэтином) и краткосрочные (модификации SGK) механизмы [Winslow R.M., 2007].

Экспрессия гена ЭПО усиливается при снижении концентрации кислорода [Sraer J. et al., 1979]. Тканевая гипоксия выступает в качестве стимула синтеза ЭПО. Ответом клетки на гипоксию является формирование комплекса белковых молекул, получившего название гипоксией индуцируемый фактор-1, который является белком с молекулярной массой 122000-132000 Дальтон и связывающегося с ДНК [Захаров Ю.М., 2005].

Первичный стимул образования ЭПО – гипоксия ткани, активизирующая гипоксией индуцируемый фактор-1. Последний вызывает транскрипцию соответствующего гена. Увеличение эритропоэтической мРНК достигает своего максимума через 4-8 часов после начала гипоксии [Chong Z.Z. et al., 2002]. ЭПО играет важную роль в формировании механизмов транспорта O_2 кровью: образования большого количества красных клеток крови, согласования механизмов легочной вентиляции и сердечного выброса, контроля местной тканевой микроциркуляции и изменения SGK [Winslow R.M., 2007]. Благодаря ЭПО формируется адекватный уровень различных внутриклеточных и системных ответов на гипоксическое воздействие, в частности, со стороны механизмов

транспорта кислорода кровью. Защита организма от повреждающего действия гипоксии связана с активацией гипоксией индуцируемого фактора-1 как в тканях, ответственных за адаптацию организма к гипоксии путем включения генерализированных приспособительных ответов в кардиомиоцитах, нервных клетках, так и непосредственно испытывающих действие гипоксии [Захаров Ю.М., 2007]. Это предполагает интерес к изучению природы эритропоэтической активности при гипоксии, реализуемой через механизмы транспорта O_2 кровью.

ЭПО является фактором, регулирующим образование молодых предшественников красных клеток крови, способствует образованию эритроцитов. В результате увеличения концентрации гемоглобина и, соответственно, повышения кислородной ёмкости крови ЭПО вносит вклад в формирование её КТФ [Wilkinson D.P. et al., 2005]. Однако его влияние на механизмы транспорта O_2 кровью может реализоваться и через модулирование SGK.

Определяющее значение в формировании КТФ крови принадлежит гемоглобину. В условиях гипоксии доставка O_2 в ткани осуществляется путем изменения тонких механизмов регуляции SGK, даже малые сдвиги которого способны максимально увеличить артериовенозную разницу по O_2 и оптимизировать его транспорт в ткани.

Введение ЭПО (200 Ед/кг) недоношенным младенцам приводит к смещению КДО вправо [Soubasi V. et al., 2000]. Известно также, что ЭПО может сдвигать КДО вправо посредством изменения концентрации 2,3-ДФГ [Milbrink J. et al., 1997]. Так, ЭПО приводит к увеличению содержания 2,3-ДФГ на 13% и тем самым способствует снижению SGK, что усиливает доставку O_2 в ткани у пациентов, находящихся на гемодиализе [Horina J.H. et al., 1993]. Введение ЭПО человеку приводит к образованию новых молодых эритроцитов, которые различаются по своим функциональным возможностям от более зрелых красных клеток крови [Rentsch R.L. et al., 2006]. В отличие от зрелых эритроцитов, молодые – крупнее в объёме, имеют более высокую плотность мембранных белков-переносчиков и активность внутриклеточных ферментов, характеризуются снижением SGK [Piomelli S., Seaman C., 1993]. В сравнении с нормальными эритроцитами у молодых

красных клеток крови КДО сдвинута вправо, что усиливает поступление O_2 в ткани, особенно в условиях введения в организм эритропоэтина [SowadeO. et al., 1997]. Предполагают, что снижение SGK при полицитемии и тромбоцитемии связано с уменьшением образования ЭПО [JohanssonP. et al., 2004]. TsangarisH.etal. [1999] исследовали изменение уровня ЭПО при разных состояниях кислородного насыщения организма в условиях анемии и без неё: при гипоксии значение кислородного насыщения увеличивается, при гипероксемии – снижается, а во время нормоксемии происходит увеличение данного параметра при анемии и стабильность его уровня при её отсутствии. Во время адаптации к высокогорью и у пациентов с метаболическим синдромом, и у лиц из контрольной группы наблюдается увеличение ЭПО и смещение КДО вправо [SchobersbergerW. et al., 2005]. Показано, что нахождение человека на высоте 4350 метров над уровнем моря приводит сначала к росту концентрации ЭПО (через 18 и 42 часа нахождения на высоте), а затем к его снижению (через 64 и 88 часов) при соответствующем изменении таких параметров КТФ крови, как насыщение артериальной крови кислородом, pH , pO_2 венозной крови [KlausenT. et al., 1996]. Введение ЭПО здоровым лицам способствует увеличению потребления ими O_2 как через повышение системных механизмов его доставки (увеличение легочного потребления O_2 после введения ЭПО до $4254,5 \pm 178,4$ с $3950,0 \pm 160,7$ мл/мин), так и через повышение его доставки к мышцам нижних конечностей (увеличение до $2079,8 \pm 120,7$ с $1777,0 \pm 102,0$ мл/мин) [LundbyC. et al., 2008]. Хорошо изучены его эритропоэтические свойства. В то же время ЭПО обладает широким спектром плеiotропного действия: влияет на кислородсвязывающие свойства крови [WilkersonD.P. et al., 2005; LundbyC. et al., 2008], сердечно-сосудистую, нервную и другие системы организма [PagonopoulouO. et al., 2008].

Смещение КДО вправо после введения ЭПО может быть обусловлено увеличением концентрации 2,3-ДФГ. Увеличение ЭПО в плазме крови повышает устойчивость ткани миокарда к гипоксии, что оптимизирует работу системы транспорта O_2 , направленную на улучшение снабжения тканей O_2 еще до увеличения кислородной емкости крови, вызванной активацией эритропоэза [KeQ., CostaM., 2006]. Известно, что умеренная высотная

гипоксия стимулирует эритропоэз, улучшает транспорт O_2 в ткани, в частности за счет снижения СГК [Schobersberger W. et al., 2005].

В наших экспериментах ЭПО вводили на протяжении 10 дней крысам (внутрибрюшинно, в дозе 100 Ед/кг однократно), а затем их подвергали холодовому воздействию и последующему отогреванию. Выявлено, что ЭПО улучшает адаптивные процессы в условиях влияния низкой температуры, реализуя свое действие на механизмы транспорта O_2 как через увеличение количества гемоглобина (у животных, получивших ЭПО, концентрация гемоглобина увеличивается на 24% ($p < 0,001$) в сравнении с контролем, у крыс, получивших ЭПО и в последующем подвергнутых холодовому воздействию – на 31% ($p < 0,01$) по отношению к группе гипотермия, в группе ЭПО + гипотермия/отогревание – на 39% ($p < 0,001$) в сравнении с животными, которые были охлаждены, а затем отогреты), так и через (рис.15) снижение СГК (в группе ЭПО + гипотермия значение $p50$ при реальных значениях pH , pCO_2 и температуры увеличивается на 1,7 мм рт. ст. ($p < 0,05$) в сравнении с группой гипотермия, а введение ЭПО крысам, которые в последующем и охлаждались, и отогревались, приводит к повышению данного показателя на 2,6 мм рт. ст. ($p < 0,05$) по отношению к группе гипотермия/отогревание). Вклад ЭПО в механизмы сдвига КДО вправо имеет NO-зависимую природу, на что указывает увеличение содержания нитрат/нитритов во всех группах животных, получивших ЭПО (наибольшее повышение их содержания отмечается в группе ЭПО+гипотермия – на 47% – в сравнении с группой гипотермия/отогревание) [Зинчук В.В., Глуткин С.В., 2008].

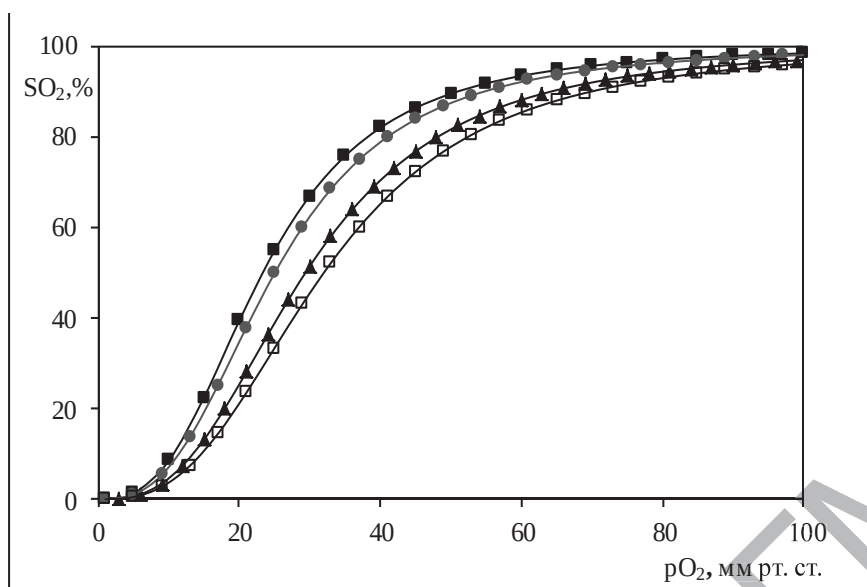


Рисунок 15. – Кривые диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH , pCO_2 и температуры в условиях холодного воздействия и последующего отогревания крыс после предварительного введения эритропоэтина

Примечание: гипотермия (■), ЭПО + гипотермия (●), гипотермия/отогревание (▲), ЭПО + гипотермия/отогревание (□).

В других наших исследованиях оценивался эффект ЭПО на КТФ крови в условиях действия ЛПС. Показано, что за 30 минут до внутривенного введения ЛПС в дозе 500 мкг/кг однократная инъекция ЭПО внутрибрюшинно в дозе 1000 Ед/кг приводит к уменьшению развития метаболического ацидоза, повышая pH на 0,083 ед. ($p < 0,05$), а также увеличивая значения HCO_3^- на 19,8% ($p < 0,05$), TCO_2 на 18,8% ($p < 0,05$), АВЕ на 32,2% ($p < 0,05$), SBE на 29,2% ($p < 0,05$), SBC на 18,7% ($p < 0,05$) по отношению к группе животных, получавших только ЛПС. Инъекция ЭПО перед ЛПС улучшает показатели КТФ крови, увеличивая значения C_vO_2 на 30,6% ($p < 0,05$), SO_2 на 21,6% ($p < 0,05$) и pO_2 на 22,4% ($p < 0,05$), однако показатель гемоглобина достоверно не изменяется. После введения ЭПО параметр $p50$ при реальных значениях pH , pCO_2 и температуры снижается на 7,2% ($p < 0,05$), что отражает повышение СГК и, соответственно, отклонение КДО при реальных условиях циркуляции влево, в то время как показатель $p50$ при стандартных значениях pH , pCO_2 и температуры повышается на 5,6% ($p < 0,05$) в сравнении с группой животных, получавших только ЛПС [Зинчук В.В. и др., 2010]. Введение

ЭПО и ЛПС приводит к снижению содержания нитрат/нитритов на 37,6% ($p < 0,05$).

Эффект ЭПО на механизмы транспорта кислорода кровью, несомненно, имеет NO-зависимую природу [Zinchuk V., 1999; Pronko T.P., Zinchuk V.V., 2009; Zinchuk V.V., Dorokhina L.V., 2002]. На фоне улучшения оксигенации тканей происходит увеличение экспрессии эндотелиальной изоформы NO-синтазы, а введение в этих условиях L-NAME приводит к устранению данного эффекта [Contaldo C. et al., 2009]. ЭПО увеличивает экспрессию эндотелиальной изоформы NO-синтазы в кардиомиоцитах как *in vitro*, так *in vivo* [Burger D. et al., 2006]. Добавление ЭПО в культуру эндотелиальных клеток приводит к увеличению образования NO [Banerjee D. et al., 2000]. Кроме того, он может снижать активность NO-синтазы (эндотелиальной изоформы) и образование NO при его инкубации в течение суток с эндотелиальными клетками коронарных артерий [Wang X.Q., Vaziri N.D., 1999]. При ишемическом повреждении головного мозга ЭПО ингибирует повышенное образование NO в гиппокампе [Calapai G. et al., 2000]. pO_2 в тканях через NO и его производные способно регулировать количество и активность гипоксией индуцируемого фактора-1 α . При гипоксии NO уменьшает стабилизацию и его транскрипционную активность [Berchner-Pfannschmidt U. et al., 2007]. NO может также имитировать O_2 как предполагаемый геновый датчик, тем самым ингибируя вызываемые гипоксией изменения экспрессии генов. Существует NO-зависимая регуляция сигнальной трансдукции (активации) гипоксией индуцируемого фактора-1 α , осуществляемая через образование пероксинитрита, который индуцирует освобождение 2-оксоглутарата из митохондрий, регулируя связывание гидроксигликованных пролинов α -субъединиц гипоксией индуцируемого фактора-1, убиквитинизацию и деградацию этого протеина, что обеспечивает процессы регуляции ангиогенеза, клеточной адгезии, образование ЭПО с последующим выбросом молодых эритроцитов в сосудистое русло с иными кислородсвязывающими свойствами гемоглобина.

Как видим, полученные данные отражают эффект ЭПО на КТФ крови при холодовом воздействии и последующем отогревании. Увеличение концентрации ЭПО в плазме крови повышает устойчивость ткани к гипоксии и поддерживает тонус сосудов,

что оптимизирует работу системы транспорта кислорода, направленную на улучшение оксигенации тканей еще до увеличения кислородной емкости крови, вызванной активацией эритропоэза [Захаров Ю.М., 2007]. Очевидно, существует некий дополнительный механизм, обеспечивающий улучшение функционирования системы транспорта кислорода кровью. Коррекция КТФ путем введения ЭПО уменьшает избыточную продукцию NO за счет снижения активации индуцибельной изоформы NO-синтазы, что уменьшает образование пероксинитрита и его негативное действие, а также может влиять на SGK через образование различных NO-соединений с гемоглобином (нитрозогемоглобин, нитрозилгемоглобин), регуляцию сосудистого тонуса, что имеет важное значение для процессов газообмена [Stepuro T.L., Zinchuk V.V., 2006; Зинчук В.В., 2003].

Таким образом, действие ЭПО на КТФ крови проявляется не только непосредственным влиянием на концентрацию гемоглобина, соответственно, увеличение кислородной емкости, но и через формирование кислородсвязывающих свойств крови.

1.8 Эффект мелатонина на кислородтранспортную функцию крови

Одним из важных гормонов организма, участвующих в обеспечении его гуморальной регуляции, является мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптамиин) [Рапопорт С.И., Шатолова А.М., 2001]. Он является гормоном, обладающим уникальными адаптивными возможностями, нарушение его продукции является пусковым механизмом развития десинхроноза и различной патологии [Рахимова О.Ю., 2009]. Его основное количество продуцируется в эпифизе, сетчатке глаза, клетках APUD-системы пищеварительного тракта, печени, желчном пузыре, почках, надпочечниках, легких, плаценте, эндометрии, яичниках, предстательной железе, тимусе, эндотелии, клетках крови (лейкоцитах, тромбоцитах), регулирует циркадную динамику физиологических функций [Anisimov V.N. et al., 2006]. Данный гормон является индольным производным серотонина. Образуется с участием ферментов п-ацетилтрансферазы и гидроксиндол-о-метилтрансферазы (рис. 16).

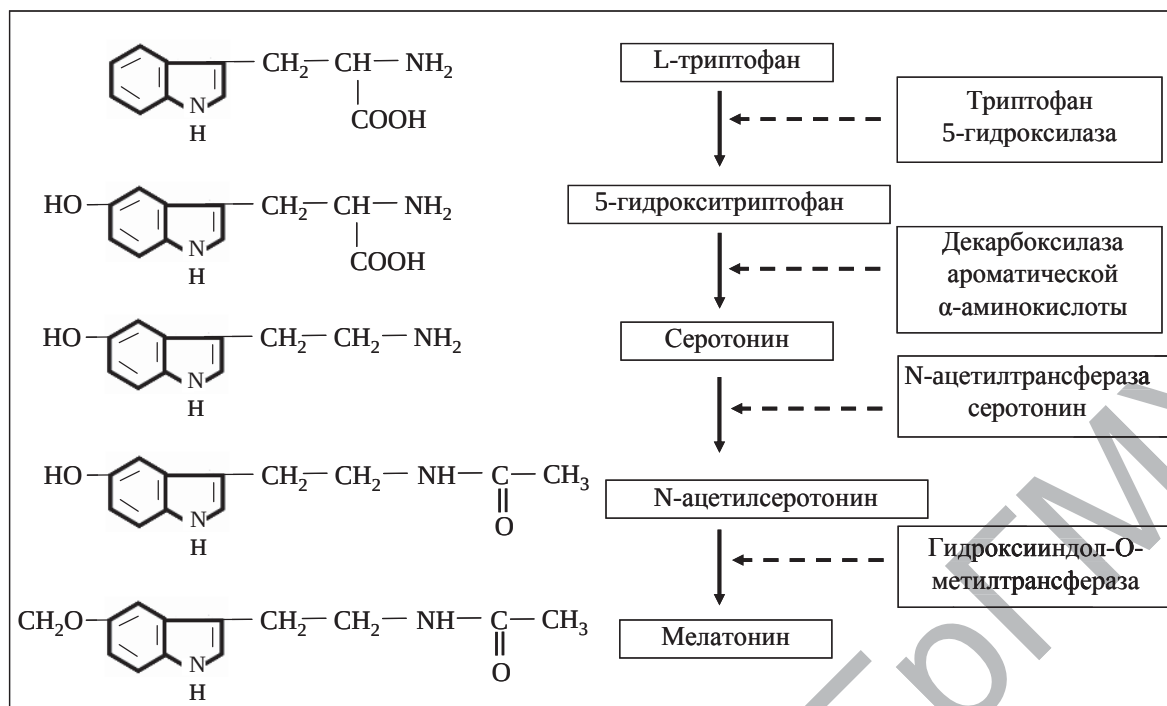


Рисунок 16. – Основные пути синтеза мелатонина

Спектр физиологических эффектов, вызываемых мелатонином, достаточно широк. Действие данной субстанции реализуется на системном, тканевом, клеточном и субклеточном уровнях [Anisimov V.N. et al., 2006], обусловленное его способностью хорошо растворяться как в воде, так и в липидах, благодаря чему он проникает через клеточные мембраны и обеспечивает осуществление различных физиологических процессов [Catalá A., 2007].

Действие мелатонина на механизмы транспорта кислорода кровью является достаточно разнообразным. Так, в опытах *in vitro* добавление гормона в культуру эритроцитов человека и животных предупреждает гемолиз, вызываемый различными цитотоксическими воздействиями (паракват, МДА, H_2O_2 , соли тяжелых металлов и др.), при этом сроки наступления 100% гемолиза практически удваиваются, осмотическая стойкость эритроцитов возрастает одновременно с повышением в них уровня ионов калия, задерживается модификация мембранных белков, денатурация гемоглобина и высвобождение гемина [Allegra M. et al., 2003]. Выявлено регуляторное влияние данного гормона на процесс образования и функцию основных элементов крови, обеспечивающих адаптивный характер их изменений при неблагоприятных воздействиях [Арушанян Э.Б., Бейер Э.В., 2006]. Показано, что

мелатонин может эффективно восстанавливать оксиферрил-гем из перферрил-гемоглобина, образуя метгемоглобин [TesoriereL. et al., 2001].

Введение испытуемым мелатонина в течение 10 дней в дозе 1 мг/кг приводит к увеличению количества эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов [Арушанян Э.Б., Бейер Э. В., 2006]. В то же время есть данные, что он снижает количество гемоглобина на 3-4% и эритроцитов на 5% у людей на фоне введения ЛПС [JoheP.D., ØsterudB., 2005]. Использование данного средства ежедневно в течение семи суток вызывает уменьшение количества нейтрофилов, предотвращает нарушение эритропоэза в костном мозге у крыс после введения ацетата свинца [OthmanA.I. et al., 2004]. Мелатонин влияет на реологические свойства крови (ДЭ). Обнаружена взаимосвязь между уровнем мелатонина, изменяющимся в течение суток, и ДЭ. Данная субстанция предотвращает усиление процессов ПОЛ (повышение МДА) и увеличение уровня NO на фоне ухудшения ДЭ, что улучшает микрореологию эритроцитов после введения ЛПС [YererM.B., AydoğanS., 2006]. Ранее было показано, что гормон шишковидной железы повышает ДЭ путём снижения уровня NO и изменения прооксидантно-антиоксидантного равновесия (уменьшает активность процессов ПОЛ) при экспериментальном сепсисе [AydoganS. et al., 2004]. Гемоглобин, возможно, может выступать в качестве переносчика белка мелатонина и в дальнейшем транспортировать его к органам-мишеням. Эпифизарный гормон защищает клетки крови от радиационного поражения [КосМ. et al., 2002].

Введение внутривенно мелатонина (однократно и в течение четырех суток) перед холодовым воздействием и последующим отогреванием приводит к улучшению транспорта кислорода в ткани, смещению КДО при реальных значениях pH , парциальном напряжении углекислого газа и температуры вправо ($p50$ (парциальное напряжение кислорода крови, соответствующее 50% насыщению ее кислородом) увеличивается на 7,0 ($p<0,05$), 10,9 ($p<0,01$) и 12,9% ($p<0,001$), соответственно, для указанных доз) [HlutkinS.V., ZinchukV.V., 2008]. Применение мелатонина и ЛПС снижает значение $p50$ при реальных значениях pH , парциальном напряжении углекислого газа и температуры на 13,1% ($p<0,05$) в сравнении с группой животных, получавших

только ЛПС, повышает СГК, что соответствует сдвигу КДО [Зинчук В.В., Шульга Е.В., 2010].

В условиях гипотермии и отогревания после введения мелатонина однократно 1 мг/кг значение нитрат/нитритов повышается на 15,3% ($p < 0,01$), после инъекции 1 мг/кг гормона четырёхкратно – на 29,3% ($p < 0,001$) [Зинчук В.В. и др., 2009]. Наибольшее увеличение содержания данного параметра по отношению к вышеуказанной группе на 41,3% ($p < 0,001$) наблюдается после введения мелатонина однократно в дозе 10 мг/кг. Инъекции мелатонина способствуют также снижению образования NO, судя по уменьшению концентрации нитрат/нитритов на 50,7% ($p < 0,05$) в условиях ведения ЛПС [Зинчук В.В., Шульга Е.В., 2010]. Гормон шишковидной железы уменьшает дисбаланс выработки NO, судя по изменению концентрации нитрат/нитритов в плазме крови, что свидетельствует об NO-зависимом механизме формирования кислородсвязывающих свойств крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса.

NO является универсальным регулятором физиологических функций, обладает паракринным и аутокринным действием, оказывая влияние на физиологические процессы не только в клетке, в которой он синтезируется, но и в соседних. Эта молекула может взаимодействовать с гемоглобином, образуя разные соединения (метгемоглобин, нитрозилгемоглобин, S-нитрозогемоглобин), изменяющие СГК. Воздействуя на разные звенья L-аргинин-NO системы, можно изменять её роль в физиологических и патологических процессах. Посредством мелатонина можно регулировать образование NO, изменяя кислородсвязывающие свойства крови, влияя на механизмы транспорта кислорода, тем самым благоприятствуя процессам тканевой оксигенации. Эффект мелатонина, реализуемый посредством влияния на СГК, может быть использован для коррекции прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса по усилению антиоксидантной защиты путем модификации его сродства к кислороду через внутриэритроцитарные механизмы регуляции, кислородзависимый характер образования NO, регуляцию сосудистого тонуса, действие пероксинитрита [Зинчук В.В., 2009].

Эффект мелатонина и его производных на кислородзависимые процессы может быть связан не только с их прямым дейст-

вием (воздействие на специфические рецепторы), но и с опосредованным влиянием (через КТФ крови, прооксидантно-антиоксидантный баланс).

Таким образом, эффект влияния мелатонина на СГК может быть использован для коррекции метаболических нарушений, обеспечивая оптимизацию процессов тканевой оксигенации.

1.9 Динамика сродства гемоглобина к кислороду при некоторых физиологических и патологических состояниях

Влияние ряда факторов внешней среды и физиологического статуса на СГК и видовые особенности этого параметра представлены в табл. 4. Учет же данных, определяющих сдвиги СГК, важен при анализе результатов экспериментальных и клинических исследований кислородтранспортной функции крови [DrakeE. et al., 1963; EatonJ., 1974].

Особый интерес представляет учет баланса микроэлементов в миокарде и плазме крови при ИБС в связи с их влиянием на СГК [Канделаки И.Н. и др., 1986]. О важности этого аспекта исследований свидетельствует влияние на СГК ванадия [ХуеD. et al., 1998], цезия [LinW. et al., 1999], комплексов Zn[Урюпов О.И. и др., 1984], Mg,Zn-протопорфирина [MiyzakiG. et al., 1999] и ряда других микроэлементов.

Анализу механизма сдвигов СГК при гипо- и гипертермии, гипоксии и действию ряда физических факторов посвящен целый ряд обстоятельных публикаций с использованием современных методических приемов. В частности, увеличение устойчивости животных к гипоксии при воздействии постоянного магнитного поля связывается с повышением кислородной емкости за счет ослабления в этих условиях связи Fe с азотом гистидина и дополнительного включения O₂ [Жерновой А.И. и др., 2001].

Выявленная в условиях острой общей гипоксии обратная зависимость между уровнем ПОЛ и аффинитетом Hb к O₂ может служить основой для прогноза сдвигов ПОЛ при использовании средств регуляции СГК в ситуациях с регионарными нарушениями оксигенации тканей.

Таблица 4. – Видовые особенности и влияние некоторых физиологических факторов на сродство гемоглобина к кислороду

Видовые особенности и физиологические факторы	Объект исследования	$p50$, мм рт. ст.	Источник
Видовые характеристики $p50$	Человек	$26,6 \pm 1,2$	1
	Собака	$28,8 \pm 2,6$	
	Лошадь	$23,8 \pm 0,8$	
	Крупный рогатый скот	$25,0 \pm 1,4$	
	Крыса	$38,0 \pm 0,08$	2
	Ондатра	$24,0 \pm 0,12$	
Возрастные сдвиги	Человек 20-30 лет 60-74 года свыше 74 лет	Снижение SGK: $26,6 \pm 0,3$ $27,9 \pm 0,7$ $28,1 \pm 0,6$	3
Фазы эстрального цикла	Крыса		4
	Проэструс	$31,94 \pm 4,54$	
	Эструс	$37,70 \pm 1,41$	
	Метаэструс	$38,39 \pm 1,43$	
	Диэструс	$33,6 \pm 1,43$	
Гипертермия	Крысы	Снижение SGK $34,2 \pm 0,8$ ($29,8 \pm 1,4$)	5 6
Гипотермия	Крысы	Повышение SGK	7
Острая нормобарическая гипоксия	Крысы	Повышение SGK	8
УФ-излучение	Раствор гемоглобина	Повышение SGK	9
	Взвесь эритроцитов	$19,2 \pm 0,8$ ($22,4 \pm 1,3$)	
Низкочастотное импульсное магнитное поле	Кровь человека	Повышение SGK	10
НЭЛИ	Кровь человека	Снижение SGK	
Постоянное магнитное поле	Кровь собаки	Повышение SGK	11
Метаболический ацидоз ($pH=6,30$)	Кровь человека	Снижение SGK	12
Влияние беременности	1 триместр, клиника	$27,8 \pm 0,08$	13
	2 триместр	$28,8 \pm 0,17$ ($26,7 \pm 0,11$)	
Физическая нагрузка	Кровь человека	Снижение SGK	14
Влияние озона	Кровь человека	Снижение SGK	15

Примечание: 1. Clerbaux T. et al., 1993; 2. Томашевская М.Ф. и др., 1993; 3. Коркушко О.В. и др., 1993; 4. Балбатун О.А. и др., 1993; 5. Борисюк М.В. и др., 1993; 6. Зинчук В.В. и др., 1993; 7. Корнейчик В.Н. и др., 1993; 8. Wainwright M. et al., 2002; 9. Артюхов В.Г. и др., 1993; 10. Шигина Н.А. и др., 2002; 11. Жерновой А.И. и др., 2001; 12. Refsum H. et al., 1997; 13. Kambam J. et al., 1986; 14. Farber M. et al., 1984; 15. Coppola L. et al., 1996

Динамика СГК в значительной мере определяет картину интоксикации природными зоотоксинами [Лашина В.М., 1985], а также наблюдается при радиопатологии [Сухомлинов Б.Ф., Столяр О.Б., 1982 и др.] и воздействии других экологических факторов (табл. 5).

Таблица 5. – Влияние некоторых интермедиатов и ингибиторов метаболизма на сродство гемоглобина к кислороду

Вещество	Доза или концентрация	Объект исследования	Сдвиг p_{50}	Источник
Фруктоза	0,5 г/кг в час в течение часа	Венозная кровь здоровых людей	Без достоверных изменений	1
Фруктозо-1,6-дифосфат	Возрастающие концентрации	Венозная кровь здоровых людей. Инкубация	Достоверное повышение	2
Этанол, изо- и парапропанол	То же	Инкубация	Повышение с увеличением концентрации	3
Йодуксусная кислота	0,001 М	Венозная кровь здоровых людей. Инкубация	Достоверное снижение	4
Калия фторид	0,002 М	Венозная кровь здоровых людей. Инкубация	Без достоверных изменений	4
Фосфоенол-пируват		Венозная кровь собаки	Повышение с 21 ± 3 до 47 ± 4	5
Фосфолипиды		Венозная кровь	Повышение	6
цАМФ	5 мМ	Взвесь эритроцитов	Снижение с $25,2 \pm 0,37$ до $23,8 \pm 0,26$	7

Примечание: 1. Standl E., Kobb H., 1980; 2. Bageacu V., Diny V., 1980; 3. Cordone L. et al., 1979; 4. Engel K., G. Due G. et al., 1968; 5. Cornum R. et al., 1998; 6. LaBrake C. et al., 1992; 7. Борисюк М.В., 1981

Весьма интересной представляется также идея о тесной взаимосвязи СГК и некоторых параметров ПОЛ в условиях острой гипоксии [Борисюк М.В. и др., 1989, 1993; Павлюк И.В. и др., 1993; Заводник И.Б., Лапшина Е.А., 1996].

Существенное снижение СГК активизирует диссоциацию HbO_2 и поступление O_2 в ткани, что при истощении пула эндогенных антиоксидантов ведет к интенсификации ПОЛ, как это имеет место при реперфузии ишемизированного миокарда.

С другой стороны, повышение СГК может играть регуляторную роль, обеспечивая доставку O_2 и возможность его утилизации в соответствии с потребностями миокарда в зоне ишемии при снижении образования продуктов ПОЛ. Такая картина характерна для реперфузионного синдрома, однако при весьма ограниченной доставке O_2 в зону ишемии снижение СГК играет в основном позитивную роль в поддержании выживаемости миокарда, выключенного из коронарного кровообращения.

Заслуживает внимания также способность оксигемоглобина активизировать более чем в 2 раза ключевой фермент гликолиза глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу [Brookes P. et al., 1997] и позитивно влиять на гликолитическую энергопродукцию.

Со снижением СГК в переливаемой крови связывается более высокий ее эффект при обменной трансфузии крови [Иванов К.П. и др., 1987], изменения радиочувствительности опухолевой ткани [Hirst D. et al., 1987] и ряд других сдвигов реактивности подопытных животных, представляющих интерес для клинической фармакологии.

1.10 Сдвиги гемоглобина к кислороду при ишемии миокарда и сопутствующих патологиях

Классическая схема КТФ гемоглобина в условиях достаточной оксигенации в легких приобретает при регионарной ишемии миокарда индивидуальный характер в зависимости от уровня расстройств общего кровообращения и ряда других патогенетических факторов, влияющих на уровень аффинитета гемоглобина к кислороду (табл.6).

Признавая генетическую детерминированность СГК, следует указать на определенный диапазон изменений $p50$ адаптивной природы [Giannelli S. et al., 1977].

С учетом многофакторного генеза сдвигов $p50$ в условиях ишемии миокарда особый интерес представляет избирательная регистрация $p50$ в крови венечного синуса, позволяющая более достоверно оценивать взаимосвязь уровня потребления кислорода миокардом со сдвигами $p50$ в крови, оттекающей от миокарда.

Таблица 6. – Влияние ишемической болезни сердца и некоторых факторов риска на СГК

Патологическое состояние или фактор риска	Категория обследованных	p50, мм рт. ст.		Литература
		Контрольная группа (n)	Обследуемые пациенты (n)	
Инфаркт миокарда	пациенты	27,1±0,3 (15)	30,4 (43)	1
Неосложненный			29,2 (16)	
Слабовыраженная недостаточность левого желудочка			30,8 (19)	
Отек легких			31,2 (4)	
Кардиогенный шок			33,0 (4)	
Стенокардия	пациенты (не курят)	26,7±1,5 (8)	26,6±1,4 (10)	2
Стенокардия (приступ)	пациенты	30,1	37,9 (19)	3
Прогрессирующая стенокардия			Δ+1,98±0,53 (21)	
Ишемический инсульт		24,13±0,40 (40)	23,07±0,51 (46)	4
Гиперлипидемия Тип I		26,2±0,8 (24)	19,9±1,6 (4)	5
Тип IIА			25,8±1,2 (7)	
Тип IIВ			24,8±1,8 (15)	
Тип IV			24,3±2,0 (11)	
Тип V			20,4±1,6 (7)	
Курение	Молодые здоровые люди (20 лет), выкуривающие более 8 сигарет в день	26,2±0,8 (24)	25,2±1,4 (19)	6
	Более 20 сигарет в день	26,41±0,14 (15)	22,92±0,25 (15)	7
Сахарный диабет	пациенты при лечении инсулином	27,6±0,8 (24)	25,6 (14)	8
Органическое заболевание сердца (45 пациентов из 65 перенесли острый ИМ)	пациенты (средний возраст 58,5 года)	27,8±0,1 (10)	24,5±0,3 (65)	9
Пациенты с ИБС. ХСН			Повышение СГК	9
После лечения		25,84±0,50	21,15±0,44	
Крупноочаговый ИМ	1-й день	27,0±0,23 (31)	29,1±0,35	10
	10-й день	28,3±0,91 (31)	29,8±0,67	
Ночное апноэ		27,1±0,3	28,5±1,2	11

Примечание: 1. W. Kostuketal., 1993; 2. P. Vokonasetal., 1974; 3. М.А. Лис и др., 1993; 4. А.М. Матешаидр., 1993; 5. J. Ditzeletal., 1978; 6. J. Ditzeletal., 1977; 7. J. Kambam et al., 1986; 8. J. Neville et al., 1993; 9. В.В. Грязновидр., 1989; 10. С.Б. Матвеевидр., 1983; 11. D. Maillardetal., 1991

Регистрация $p50$ в венечном синусе в экспериментах на собаках показала, что этот параметр существенно выше, чем в общей венозной крови ($35,0 \pm 1,44$ и $30,9 \pm 1,16$ мм рт. ст., соответственно) [Борисюк М.В., 1981]. Уровень адаптивных сдвигов $p50$ при ишемии миокарда и исследование возможности даже кратковременного фармакологического влияния на компенсаторный потенциал $p50$ является предметом многочисленных поисковых исследований в этой области [Матвеев С.Б. и др., 1985; Лис М.А. и др., 1993; Kostuk W. et al., 1973; Rude R. et al., 1983].

Важную роль в формировании эффекта, связанного с деоксигенацией гемоглобина, играет учет фазы патологического процесса и фактора времени. Так, в частности, если в условиях эксперимента ретрансфузия крови с повышенным содержанием 2,3-ДФГ и сниженным СГК обезьянам дает положительный эффект при гемодинамической нагрузке, то при введении индукторов синтеза 2,3-ДФГ в кровь эффекта практически не наблюдалось [Krall M. et al., 1978].

Следует, однако, признать, что эти разрозненные работы еще не стали стимулом для проведения систематических целенаправленных исследований в области мобилизации потенциала КТФ крови в системе фармакотерапии гипоксии и регионарных ишемических состояний.

С этой точки зрения, показателен обзор D. Warltier et al. [2000], в котором лишь одной строкой указано на возможность использования регуляции СГК как средства профилактики ишемии миокарда при хирургических операциях. Сдвиги СГК отмечены и при ряде патологических состояний, не связанных с сердечно-сосудистой системой, а также при интоксикации химическими агентами.

1.10.1 Влияние противоишемических средств на сродство гемоглобина к кислороду

Немногочисленные данные, характеризующие сдвиги СГК под влиянием средств клинической фармакотерапии ИБС, представлены в табл. 7 и 8.

Таблица 7. – Действие адренергических средств на динамику сдвигов сродства гемоглобина к кислороду

Препарат	Доза и способ введения	Объект исследования	n	p50, мм рт. ст.		Источник
				Контроль	Эксперимент	
Пропранолол	0,5 мг/кг внутрикоронарно, в течение 5 мин.	Венозная кровь собаки, инкубация в течение 5 мин.	6	30,5±0,1	30,6±0,3	1
	5 мг/кг внутрикоронарно, в течение 5 мин.	Тот же	6		30,7±0,3	
Пропранолол (λ- и ε-производные)	5 · 10 ⁻⁵ М	Тот же	6	29,6±1,0	30,9±1,0	
	1 · 10 ⁻⁴ М	Тот же	6	29,3±0,4	31,6±2,8	
Пропранолол	40-240 мг/сут	Венозная кровь пациентов со ССН	12	28,2±0,9	31,7±0,7	2
Пропранолол	50 мкг/мин внутрикоронарно, в течение 5 мин.	То же	6		27,8±0,7	3
Пропранолол	160 мг/сут	Кровь пациентов с гипертонической болезнью	40		Снижение сродства	4
Ацебутолол	10-40 мкг/мл	Кровь здоровых волонтеров	5		Без существенных изменений	5
Адреналин	5 мкг/кг/мин в течение 5 мин.	Кровь из венозного синуса	4	35,0±1,4	27,6±0,22	6
Допегит	750 мг/сут	То же	40		Без изменений	4
Кавинтон	40 мг/сут	ХИБС и дистрофия сетчатки, кровь	36		Снижение сродства	7
Серотонин	10 ⁻⁴ М	Раствор гемоглобина		19,6±1,0	14,0±1,2	8

Примечание: 1. G. Gross et al. [1977]; 2. J. Schrumph et al. [1977]; 3. J. Schrumph et al. [1975]; 4. К.Ю. Конкольдр. [1993]; 5. К. Berntorpetal. [1979]; 6. В.М. Борисюк[1981]; 7. С.И. Ильинаидр. [1993]; 8. В.Г. Артюхов и др. [1993]

Необходимо, однако, подчеркнуть, что эта сторона действия данных препаратов изучена крайне недостаточно, и не исключена возможность связи их влияния на SGK не только с лечебным действием, но и формированием некоторых побочных эффектов сердечно-сосудистых средств. Наиболее обстоятельно исследовано влияние на SGK блокаторов β-адренорецепторов и антагани-

стов Ca^{2+} , являющихся базовыми лекарственными средствами фармакотерапии острой ишемии миокарда.

Как следует из данных, представленных в табл. 7, в клинике и при разных условиях эксперимента показано снижение СГК при введении пропранолола и кардиоселективных β -блокаторов [Конколь К.Ю. и др., 1993; GrossG. et al., 1975, 1976; BerntropK. et al., 1979; JurgenssenH. et al., 1983]. Однако в ряде опытов *invitro* влияние пропранолола на СГК (повышение $p50$ на 6-8 мм рт. ст.) отмечалось лишь в концентрациях $1-5 \times 10^{-4}$ М, существенно превышающих его пиковые концентрации в крови у пациентов [Lichtman M. et al., 1974].

Аналогичные сдвиги были отмечены и под влиянием антагонистов кальция [SchrumpfJ. et al., 1975; De-PaulaE. et al., 1992].

Анализ имеющейся весьма фрагментарной информации о влиянии на СГК ряда сердечно-сосудистых средств и инсулина (табл. 8) свидетельствует о преобладающей тенденции к снижению СГК. Отчетливое повышение СГК отмечено лишь под влиянием теofilлина [BerntropK. et al., 1979].

Рассматривая проблему фармакологической регуляции деоксигенации оксигемоглобина, необходимо подчеркнуть важность дальнейшего исследования данного типа активности средств фармакотерапии коронарной недостаточности и целесообразность комплексного воздействия на основные звенья транспорта кислорода к ишемизированному миокарду. Ведущим аспектом этой проблемы является изыскание стимуляторов деоксигенации крови разного механизма действия, которые могли бы существенно повысить лечебный эффект противоишемических средств.

В частности, систематические исследования влияния средств, применяемых при остром инфаркте, на процесс деоксигенации крови в свое время были проведены с использованием методики полярографической кулонометрии с автоматической регистрацией скорости деоксигенации [Мезенцева В.С., 1991; Гацура С.В., Гукасов В.М., 1992].

Таблица 8. – Влияние некоторых сердечно-сосудистых средств на сродство гемоглобина к кислороду

Препарат	Доза и способ введения	Объект исследования	p50, мм рт. ст.		Источник
			Контроль	Эксперимент	
Нитро-глицерин	10 мкг/кг внут-рикоронарно, в течение 3 мин.	Изолированное сердце собаки	30,5±0,1	32,1±0,3	1
Дипири-дамол	1,43 мМ	Изолированное сердце собаки	20,8	23,9	2
Дипири-дамол	25 мкг/мин внут-рикоронарно, в течение 5 мин.	Изолированное сердце собаки	27,5±0,7	27,5±0,7	3
Папаверин*	0,72 мМ	Гепаринизи-рованная кровь человека	23,9	30,9	2
Теofilлин	23-920 мкг/мл	Кровь человека		Повыше-ние SGK	4
Пенток-сифиллин	15 мкг/мл	Кровь человека	27,0±0,3	28,1±1,3	5
Цереброк-раст	0,4 мкг/кг/мин. в течение 15 мин.	Кровь артери-альная	28,8±0,4	32,0±0,5	6
Каптоприл	26 мг	Капиллярная кровь из пальца	26,0±0,4	+7,2 ±1,6%	7
Дигоксин	0,25-10,0 мкг/мл	Кровь здоровых волонтеров		Снижение SGK	4
Лазикс	10-400 мкг/мл	Кровь здоровых волонтеров		Без изме-нений	4
Пантоте-нат кальция	0,01- 1 мг/мл			Без изме-нений	5
Со Q ₁₀	1-100 мкг/мл			Без изме-нений	5
Инсулин			26,8	28,2	8

Примечания: 1.G. Gross et al. [1977]; 2. E. De-Paula et al.[1992]; 3. J. Schrupf et al. [1975]; 4. K. Berntrop et al. [1979]; 5. F. Kishietal. [1988]; 6. Т.М.Плотникова и др. [1993]; 7. В.Г. Кукес и др. [1989]; 8.CastilhoE.[2003].* - при введении пациентам со стенокардией сдвигов p50 не наблюдалось

Для стандартизации проводимых исследований типировали образцы крови по их реакции на 2,3-ДФГ ($5,9 \cdot 10^{-4}$ М). Использовали лишь те образцы крови, в которых было выявлено стимулирующее деоксигенацию действие 2,3-ДФГ, что проявлялось в увеличении показателей ПДК и скорости деоксигенации крови (К). Действие курантила, индерала и антагонистов кальция изучали в концентрациях, близких к их содержанию в плазме

крови при введении препаратов в дозах, используемых в клинических условиях.

Таблица 9. – Влияние пропранолола и дипиридамола на деоксигенацию крови

Препарат	Концентрация, М	n	ПДК	К
Контроль		12	2,55±0,15	1,35±0,08
2,3-ДФГ	$5,9 \cdot 10^{-4}$	11	3,96±0,24	2,04±0,14
Пропранолол	$8,5 \cdot 10^{-6}$	11	3,22±0,23	1,75±0,13
	$8,5 \cdot 10^{-5}$	9	2,21±0,09*	1,13±0,04
Контроль		14	0,97±0,03	0,49±0,01
Дипиридамол	$2,5 \cdot 10^{-5}$	15	0,85±0,02	0,42±0,08
	$2,5 \cdot 10^{-3}$	15	0,53±0,02	0,24±0,01
Контроль		11	1,17±0,02	0,59±0,01
Строфантин	$1,7 \cdot 10^{-6}$	10	1,62±0,03	0,80±0,02
	$1,7 \cdot 10^{-5}$	9	1,35±0,02	0,69±0,01

Примечание: *- отсутствие достоверных различий с контролем

Оказалось, что изученные кардиофармакологические препараты в концентрациях, близких к терапевтическим, оказывают разнонаправленное действие на показатели деоксигенации крови (табл.9).

Так, строфантин в концентрации $1,7 \cdot 10^{-6}$ М и пропранолол в концентрации $8,5 \cdot 10^{-6}$ М достоверно увеличивают ПДК и К. На эти показатели аналогично действует и 2,3-ДФГ. Полученные данные свидетельствуют об уменьшении СГК при действии указанных концентраций препаратов. Действие же дипиридамола в концентрации $2,5 \cdot 10^{-5}$ М проявляется, напротив, в снижении ПДК и К, что свидетельствует об увеличении СГК. При действии больших концентраций строфантина ($1,7 \cdot 10^{-5}$ М) отмечено также увеличение ПДК и К, однако существенно менее выраженное. Дипиридамол в большей концентрации ($2,5 \cdot 10^{-3}$ М) значительно уменьшает ПДК и К. Выраженный эффект при этой концентрации проявляется на всех этапах деоксигенации эритроцитов в отличие от такового при низкой концентрации: действие на показатель ΔI достоверно отличается от контроля с 8-й по 24-ю секунду. Влияние пропранолола в большей концентрации ($8,5 \cdot 10^{-5}$ М) на показатели деоксигенации противоположно по действию низкой концентрации препарата. Так, пропранолол в концентрации

$8,5 \cdot 10^{-5}$ М уменьшает ПДК и К, что свидетельствует об увеличении СГК. Достоверное увеличение показателя ΔI отмечалось с 8-й секунды электролиза.

Полученные В.С. Мезенцевой [1991] данные дают общее представление о характере действия изученных кардиофармакологических препаратов на деоксигенацию крови. Так, если строфантин и пропранолол в концентрации, близкой к терапевтической, уменьшают сродство гемоглобина к кислороду, то дипиридамо́л в низкой концентрации, напротив, увеличивает этот показатель.

Выявленные эффекты могут иметь как положительное (строфантин и пропранолол), так и отрицательное (дипиридамо́л) значение в регуляции доставки кислорода к миоцитам при ишемии миокарда. Учитывая полученные данные, лечение дипиридамо́лом в некоторых случаях, очевидно, целесообразно проводить на фоне оксигенотерапии.

Как показало исследование влияния антагонистов кальция, верапамил и нифедипин в изученных концентрациях достоверно уменьшают ПДК [Гацура С.В., Гукасов В.М., 1992], что свидетельствует о замедлении деоксигенации эритроцитов крови при использовании указанных препаратов (табл.10). Нифедипин в концентрациях $2,9 \cdot 10^{-7}$ М, помимо снижения ПДК, уменьшает и показатель К, что говорит о падении скорости деоксигенации эритроцитов крови и увеличении СГК. Сензит (фенигидин) в концентрациях $7,9 \cdot 10^{-7}$ и $7,9 \cdot 10^{-8}$ М увеличивает ПДК, что свидетельствует об уменьшении СГК. Одновременно снижается показатель К на участке кривой деоксигенации, соответствующей 50% десатурации эритроцитов (табл.10).

Таким образом, в отличие от влияния верапамила и нифедипина, сензит стимулирует деоксигенацию эритроцитов по тесту ПДК аналогично действию 2,3-ДФГ.

Таблица 10. – Влияние антагонистов кальция на деоксигенацию крови

Препарат	Исследуемая концентрация, М	ПДК	К
Контроль		2,88±0,45	3,4±0,60
2,3-ДФГ	$5,9 \cdot 10^{-4}$	11,62±2,84*	10,8±1,20*
Верапамил	$4,3 \cdot 10^{-4}$	1,25±0,02*	3,3±0,40*
	$4,3 \cdot 10^{-5}$	1,17±0,03*	2,7±0,16*
Нифедипин	$2,9 \cdot 10^{-7}$	1,05±0,03*	2,1±0,07*
	$2,9 \cdot 10^{-8}$	1,19±0,05*	2,4±0,19*
Контроль		1,66±0,07	2,8±0,03
Сензит	$7,9 \cdot 10^{-7}$	2,96±0,11*	1,9±0,06*
	$7,9 \cdot 10^{-8}$	1,88±0,07*	1,8±0,08*

Примечание: каждая серия включает 10 опытов, * – достоверные различия с контролем ($p < 0,05$)

Результаты исследования влияния верапамила и амлодипина на СГК в концентрациях, близких к возникающим в крови пациентов при назначении препаратов в клинических условиях, представлены в таблице 11. Как следует из полученных данных, верапамил и амлодипин в изученных концентрациях обладают прямо противоположным действием на СГК, что исключает доминирующую роль в этом эффекте их специфического блокирующего действия на медленные кальциевые каналы [Гацура С.В., 2004]. Верапамил в концентрациях 80 и 400 нг/мл достоверно повышает сродство гемоглобина к кислороду, тогда как амлодипин в концентрации 50 нг/мл снижает СГК (p_{50} повышается с $30,19 \pm 0,50$ мм рт. ст. в контроле до $32,68 \pm 0,77$) (рис. 17 и 18).

Отмеченные особенности действия антагонистов кальция заслуживают внимания при их использовании в качестве антигипертензивных или противоаритмических средств на фоне ИБС, когда снижение деоксигенации крови такими препаратами, как верапамил и нифедипин, может приводить к ухудшению доставки кислорода к миокарду.

Способность амлодипина и сензита ускорять деоксигенацию эритроцитов позволяет считать их применение у пациентов с хронической коронарной недостаточностью более предпочтительным. Исследование влияния верапамила и амлодипина на СГК при назначении разовой дозы волонтерам не выявило сколько-нибудь значимых сдвигов p_{50} .

Таблица 11. – Влияние амлодипина и верапамила на СГК кроликов

Препарат	Концентрация, нг/мл	n	p50, мм рт. ст.
Контроль		8	30,19±0,50
Амлодипин	10	7	29,42±0,37
	50	6	32,68±0,77*
Верапамил	80	7	26,02±0,52*
	400	7	27,33±0,34*

Примечания: * - $p < 0,05$

Анализ представленных данных указывает на выраженную по сравнению с верапамилем специфику действия амлодипина на СГК, которая может быть в определенной степени связана с особенностями химической структуры молекулы амлодипина – высокой степенью ее ионизации, селективным связыванием с поверхностными локусами кальциевых каналов и рядом других особенностей биологической активности препарата [Mason R. et al., 2000], исследование которых важно для целенаправленного поиска новых блокаторов кальциевых каналов.

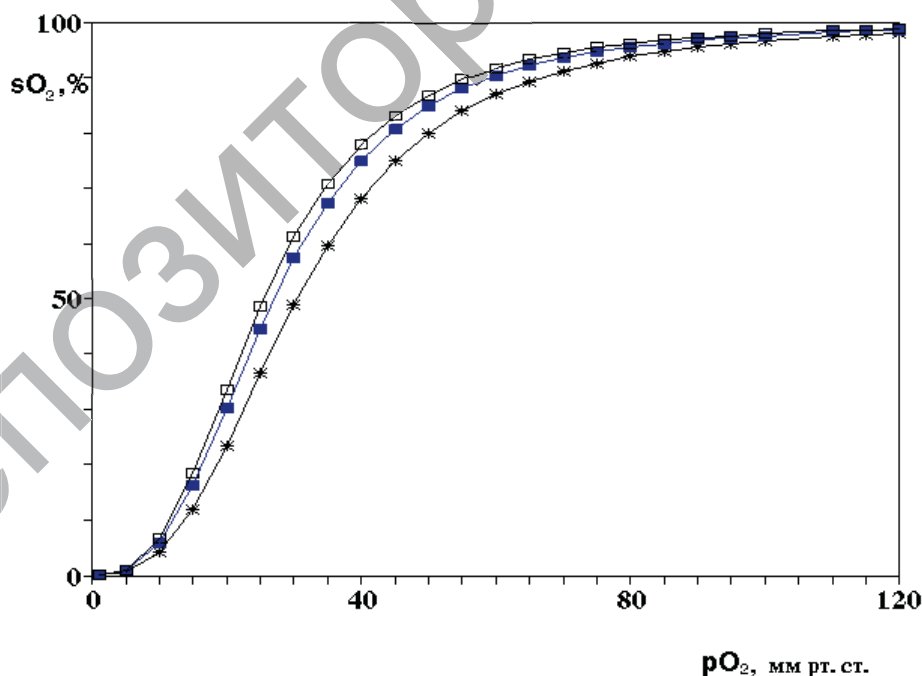


Рисунок 17. – Кривые диссоциации оксигемоглобина при инкубации крови с верапамилем в концентрации 80,0 (■) и 400,0 (□) нг/мл; * – контроль

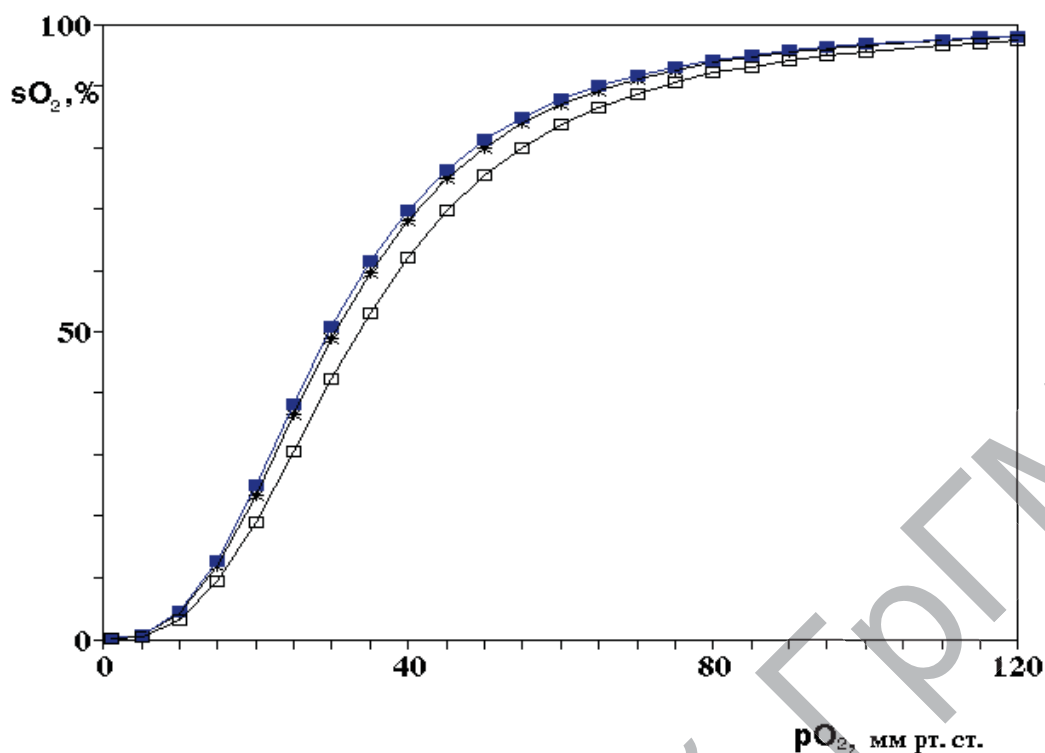


Рисунок 18. – Кривые диссоциации оксигемоглобина при инкубации крови с амлодипином в концентрации 10,0(■) и 50,0 (□) нг/мл; *- контроль

Негативный результат попытки выявления взаимодействия верапамила с кристаллами деоксигемоглобина рентгенодифрактографическим методом, предпринятой по нашему предложению проф. А. Arnop в Университете Айовы, США [2002 г.], не исключает необходимости дальнейшего изучения возможного прямого влияния БКК на конформационный статус гемоглобина в водно-солевых растворах.

При оценке положительного эффекта сдвига кривой диссоциации оксигемоглобина вправо необходимо учитывать достаточность оксигенации крови в легких [GutierrezG. et al., 1989; MannixE. et al., 1993; SteinJ. et al., 1993; ClerbauxT. et al., 1997] и уровень диффузии O₂ через мембранные структуры эритроцитов и капилляров, а также выраженность гипоксии тканей и динамику других факторов, влияющих на SGK.

С другой стороны, компенсаторные сдвиги при гипоксии тканей, включающие также изменения кислородтранспортной

функции гемоглобина, могут играть существенную роль в повышении неспецифической резистентности организма.

Прерывистая нормобарическая гипоксия, в частности, мобилизует потенциал генетического аппарата, ответственного за формирование адаптационных процессов в системе обеспечения оксигенации тканей и приводит к целому ряду позитивных цитобioхимических сдвигов [Лебкова Н.П. и др., 1997].

Опыт применения индивидуализированной прерывистой нормобарической гипоксии при ИБС показал, что при этом улучшается альвеолярная аэрация, процесс оксигенации гемоглобина, нормализуются артериальное давление и другие клинические показатели [Полуянова В.М., Вавилов М.П., 1997].

Систематическое исследование механизмов лечебного действия курсовой (прерывистой) нормобарической гипокситерапии [Стрелков Р.Б. и др., 1985; Агаджанян Н.А. и др., 1997] как метода повышения общей резистентности организма весьма близко по своей идеологии и методическим приемам к многочисленным примерам изучения генеза феномена “preconditioning” при экспериментальной ишемии миокарда.

Это направление фармакопрофилактических воздействий представляется весьма актуальным в плане дальнейшего развития оксигенотерапии как в экспериментальном, так и клиническом аспекте.

1.10.2 Влияние средств комплексной терапии ИБС на сродство гемоглобина к кислороду

К этой группе средств условно отнесены сердечные гликозиды, антагонисты ренин-ангиотензиновой системы, метаболиты энергетического обмена и ряд других препаратов вспомогательной фармакотерапии ИБС.

В системе комплексной фармакотерапии острой коронарной недостаточности необходимо учитывать направленное воздействие энергообеспечивающих и других противоишемических средств на транспорт кислорода к ишемизированному миокарду за счет влияния на СГК, сдвигов диффузии кислорода через эритроцитарные мембраны, а также активации внутриклеточного переноса кислорода к местам утилизации.

Изучение влияния на деоксигенацию крови 1,6-фруктозодифосфата и интермедиатов цикла Кребса выявило, что эти соединения в низких концентрациях ($2,5 \cdot 10^{-6}$ М) положительно действуют на высвобождение кислорода из проб крови (рис. 19) [Мезенцева В.С., 1991].

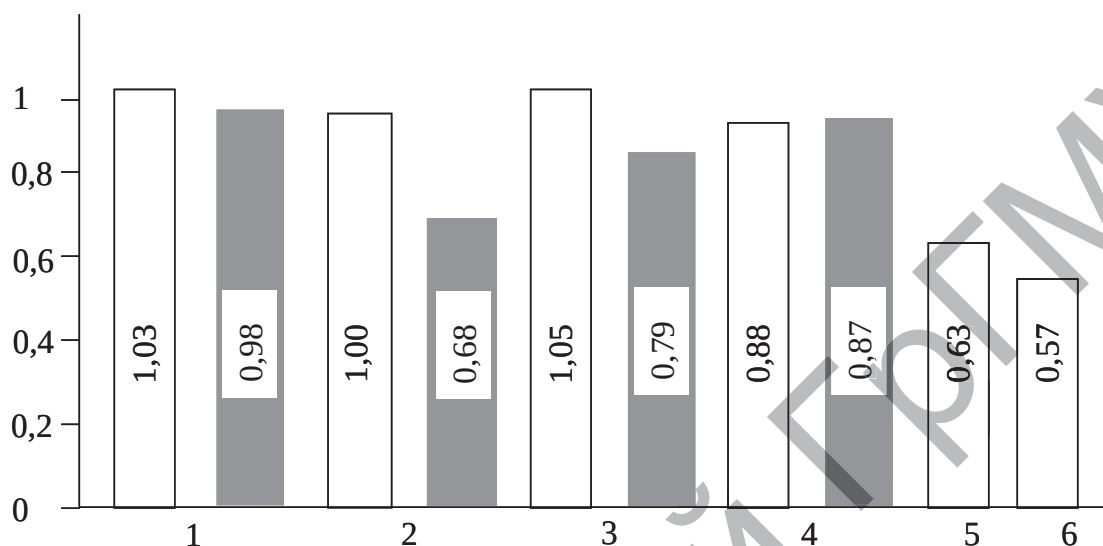


Рисунок 19. – Влияние некоторых энергообеспечивающих средств на деоксигенацию крови

Примечание: светлые столбцы – данные опытов *invitro* при исследовании соединений в концентрации $2,5 \cdot 10^{-6}$ М; темные столбцы – при внутривенном введении соединений крысам.

1 – 1,6-фруктозодифосфат (200 мг/кг); 2 – малат натрия (200 мг/кг); 3 – сукцинат натрия (100 мг/кг); 4 – N-сукцинил-β-аланин (112 мг/кг); 5 – N-сукцинглицин; 6 – N-сукцин-триптофан.

В частности, установлено, что предшественник 2,3-ДФГ 1,6-фруктозодифосфат в концентрации $2,5 \cdot 10^{-6}$ М в опытах *invitro* повышал деоксигенацию оксигемоглобина аналогично действию 2,3-ДФГ ($1,2 \cdot 10^{-3}$ М). В опытах на интактных крысах и животных с изадриновой сердечной недостаточностью при внутривенном введении 1,6-фруктозодифосфата (300 мг/кг) также наблюдается положительный эффект по тесту Δи скорости деоксигенации крови. Интересные данные были получены при исследовании соединений янтарной кислоты с аминокислотами – аланином, глицином и триптофаном (табл. 12). Важно также отметить, что повышение деоксигенации крови под влиянием

1,6-фруктозоdifосфата и малата натрия в опытах *invivo* не сопровождалось существенными сдвигами SGK по тесту p50.

Энергообеспечивающие средства в принципе являются естественными модуляторами уровня деоксигенации крови благодаря их мембранотропному действию и участию в метаболической регуляции SGK. С этих позиций заслуживает внимания более выраженный эффект низких концентраций метаболитов по сравнению с действующей концентрацией 2,3-ДФГ, что указывает на ограниченный лимит возможной активации ими синтеза 2,3-ДФГ и повышения трансмембранной диффузии O_2 . Приведенные данные подчеркивают необходимость детального анализа этой стороны фармакологической активности энергообеспечивающих средств, которые могут применяться при лечении ИБС.

С использованием методики полярографической кулонометрии с автоматической регистрацией скорости деоксигенации проведено исследование влияния на процесс деоксигенации крови быстродействующего сердечного гликозида строфантина, используемого при острой сердечной недостаточности [Мезенцева В.С., 1991; Гацура С.В., Гукасов В.М., 1992].

Действие строфантина изучали в концентрациях, близких к их уровню в плазме крови при введении гликозида в дозах, применяемых в клинических условиях.

Строфантин в концентрации $1,7 \cdot 10^{-6}$ М достоверно увеличивает ПДК и К на 38,5% и 35,6%, соответственно. При действии более высоких концентраций строфантина ($1,7 \cdot 10^{-5}$ М) также наблюдалось увеличение ПДК и К, но существенно менее выраженное. Снижение SGK отмечалось ранее и при изучении влияния дигоксина по тесту p50 *invitro* на пробах цельной человеческой крови, однако при исследовании резко завышенных (5-10 мкг/мл) концентраций гликозида [Berntrop K. et al., 1979].

Таблица 12. – Влияние метаболитов энергетического обмена на деоксигенацию крови в опытах *invitro*(I), у интактных крыс (II) и при изадриновой модели сердечной недостаточности (III)

Условия опыта	Исследуемые концентрации (М)	n	ΔI , усл. ед.	T_{50} , сек	K
I. Контроль		7	$3,79 \pm 1,30$	$223,94 \pm 24,59$	$2,22 \pm 0,88$
2,3-ДФГ	$1,2 \cdot 10^{-3}$	7	$9,21 \pm 1,93^*$	$225,11 \pm 30,20$	$2,31 \pm 1,09$
1,6-ФДФ	$2,5 \cdot 10^{-6}$	8	$9,50 \pm 1,76^*$	$230,77 \pm 28,89$	$2,23 \pm 0,83$
Контроль		7	$4,64 \pm 0,99$	$312,49 \pm 18,51$	$5,05 \pm 0,95$
2,3-ДФГ	$1,2 \cdot 10^{-3}$	7	$8,60 \pm 1,53^*$	$278,04 \pm 25,28$	$3,92 \pm 0,88$
Малат натрия	$2,5 \cdot 10^{-6}$	7	$8,07 \pm 1,26^*$	$300,38 \pm 35,27$	$6,57 \pm 1,66$
Контроль		8	$5,25 \pm 1,05$	$298,20 \pm 21,48$	$4,54 \pm 0,97$
2,3-ДФГ	$1,2 \cdot 10^{-3}$	8	$9,12 \pm 1,44^*$	$279,76 \pm 22,82$	$3,59 \pm 0,83$
Сукцинат натрия	$2,5 \cdot 10^{-6}$	8	$9,62 \pm 2,29^*$	$263,22 \pm 29,65$	$3,61 \pm 0,70$
Контроль		5	$3,40 \pm 1,46$	$189,84 \pm 2,57$	$1,25 \pm 0,06$
2,3-ДФГ	$1,2 \cdot 10^{-3}$	5	$11,20 \pm 2,40^*$	$196,78 \pm 11,40$	$1,15 \pm 0,06$
N-сукцин- β -аланин	$2,5 \cdot 10^{-6}$	5	$9,88 \pm 1,60^*$	$200,10 \pm 6,65$	$1,29 \pm 0,07$
Контроль		5	$3,40 \pm 1,46$	$189,84 \pm 2,57$	$1,25 \pm 0,06$
2,3-ДФГ	$1,2 \cdot 10^{-3}$	5	$11,20 \pm 2,40^*$	$196,79 \pm 11,40$	$1,15 \pm 0,06$
N-сукцинглицин	$2,5 \cdot 10^{-6}$	5	$7,10 \pm 1,25$	$199,01 \pm 7,39$	$1,36 \pm 0,08$
Контроль		4	$4,25 \pm 1,53$	$189,20 \pm 3,22$	$1,29 \pm 0,04$
2,3-ДФГ	$1,2 \cdot 10^{-3}$	4	$15,12 \pm 4,15^*$	$197,14 \pm 14,71$	$1,17 \pm 0,08$
N-сукцин-l,d-триптофан	$2,5 \cdot 10^{-6}$	5	$8,6 \pm 2,41^*$	$212,89 \pm 9,15$	$1,46 \pm 0,11$
II. Контроль		8	$10,82 \pm 1,62$	$400,74 \pm 32,39$	$3,13 \pm 0,44$
2,3-ДФГ	$0,6 \cdot 10^{-3}$	7	$14,06 \pm 2,36$	$384,42 \pm 28,31$	$2,96 \pm 0,53$
1,6-ФДФ	300,0	8	$13,7 \pm 1,56^*$	$369,91 \pm 32,95$	$4,00 \pm 0,52$
Контроль		5	$1,05 \pm 0,70$	$496,88 \pm 35,44$	$4,19 \pm 0,66$
2,3-ДФГ	$0,6 \cdot 10^{-3}$	5	$5,06 \pm 1,25^*$	$544,70 \pm 55,94$	$4,96 \pm 0,75$
Малат натрия	200,0	5	$3,47 \pm 2,65$	$465,33 \pm 41,58$	$4,76 \pm 0,48$
Контроль		8	$8,04 \pm 1,45$	$317,62 \pm 20,10$	$3,43 \pm 0,42$
2,3-ДФГ	$0,6 \cdot 10^{-3}$	7	$8,30 \pm 1,91$	$267,67 \pm 17,07$	$3,25 \pm 0,62$
Сукцинат натрия	100,0	8	$6,56 \pm 0,92$	$277,43 \pm 19,89$	$4,34 \pm 0,44$
Контроль		7	$3,37 \pm 1,69$	$274,43 \pm 28,70$	$4,70 \pm 0,55$
2,3-ДФГ	$0,6 \cdot 10^{-3}$	6	$6,86 \pm 1,26$	$305,56 \pm 37,59$	$4,63 \pm 0,34$
N-сукцин- β -аланин	112,0	7	$5,94 \pm 0,65$	$300,58 \pm 17,56$	$6,23 \pm 0,99$
III. Контроль		5	$4,88 \pm 1,13$	$334,91 \pm 16,20$	$4,18 \pm 1,12$
2,3-ДФГ	$0,6 \cdot 10^{-3}$	5	$9,10 \pm 2,51$	$300,54 \pm 12,58$	$4,24 \pm 1,04$
1,6-ФДФ	300,0	5	$7,72 \pm 2,38$	$308,92 \pm 14,91$	$4,44 \pm 0,91$
Контроль		5	$2,58 \pm 1,41$	$388,38 \pm 28,56$	$4,15 \pm 0,88$
Малат натрия	200,0	5	$5,35 \pm 2,67$	$375,14 \pm 57,97$	$4,46 \pm 0,65$
Контроль		7	$9,42 \pm 2,63$	$286,83 \pm 34,58$	$3,35 \pm 0,69$
Сукцинат натрия	100,0	7	$6,86 \pm 1,87$	$318,88 \pm 26,69$	$4,88 \pm 0,71$

Контроль		9	$0,08 \pm 2,82$	$391,34 \pm 25,26$	$4,53 \pm 0,60$
2,3-ДФГ		8	$7,08 \pm 1,35$	$366,19 \pm 25,01$	$4,04 \pm 0,55$
N-сукцин- β -аланин	112,0	9	$6,37 \pm 2,38$	$424,00 \pm 42,99$	$5,76 \pm 0,85$

Примечание: * - $p < 0,05$

Представленные данные подчеркивают назревшую необходимость дальнейшего исследования влияния сердечных гликозидов на СГК для повышения эффективности их применения в клинической практике.

Эффективность применения ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента и блокаторов АП-рецепторов в лечении постинфарктной хронической сердечной недостаточности на фоне АГ связана не только со снижением системного артериального давления и, соответственно, посленагрузки, ибо аналогичное его снижение в случае применения гидралазина в сочетании с нитросорбидом не давало такого положительного эффекта [CohnJ. et al., 1991].

К существенным факторам терапевтического действия ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента и лозартана следует отнести как снижение коронароконстрикторного действия АП, так и торможение АП-индуцированного интерстициального миокардиофиброза и сопряженного с ним затруднения диффузии кислорода к кардиомиоцитам [SabbahH. et al., 1995; WeberK., 1997]. В этом плане заслуживают внимания данные о возможном влиянии используемых доз эналаприла и лозартана на СГК. Результаты исследования влияния эналаприла и лозартана на СГК представлены в табл.13.

Таблица 13. – Влияние эналаприла и лозартана на сродство гемоглобина к кислороду кролика

Препарат	Концентрация, нг/мл	n	$p50$, мм рт.ст.
Контроль		8	$30,19 \pm 0,50$
Эналаприл	10	6	$29,53 \pm 0,69$
	50	7	$30,48 \pm 0,48$
Лозартан	50	6	$30,91 \pm 0,81$
	250	7	$27,79 \pm 0,72^*$

Примечание: * - $p < 0,05$

Приведенные в таблице 13 данные свидетельствуют, что эналаприл в концентрациях 10 и 50 нг/мл и лозартан в концентрации 50 нг/мл не вызывают существенных сдвигов $p50$. В концентрации же 250 нг/мл лозартан достоверно повышал СГК ($p50$ снижалось с $30,19 \pm 0,50$ в контроле до $27,79 \pm 0,72$ мм рт. ст.) (рис.20).

Исследование эналаприла и лозартана при их введении за 15 мин. до перевязки нисходящей ветви левой коронарной артерии у крыс показало, что оба препарата вызывают статистически значимое ограничение размеров экспериментального инфаркта на 22,8-31,9% (табл. 14).

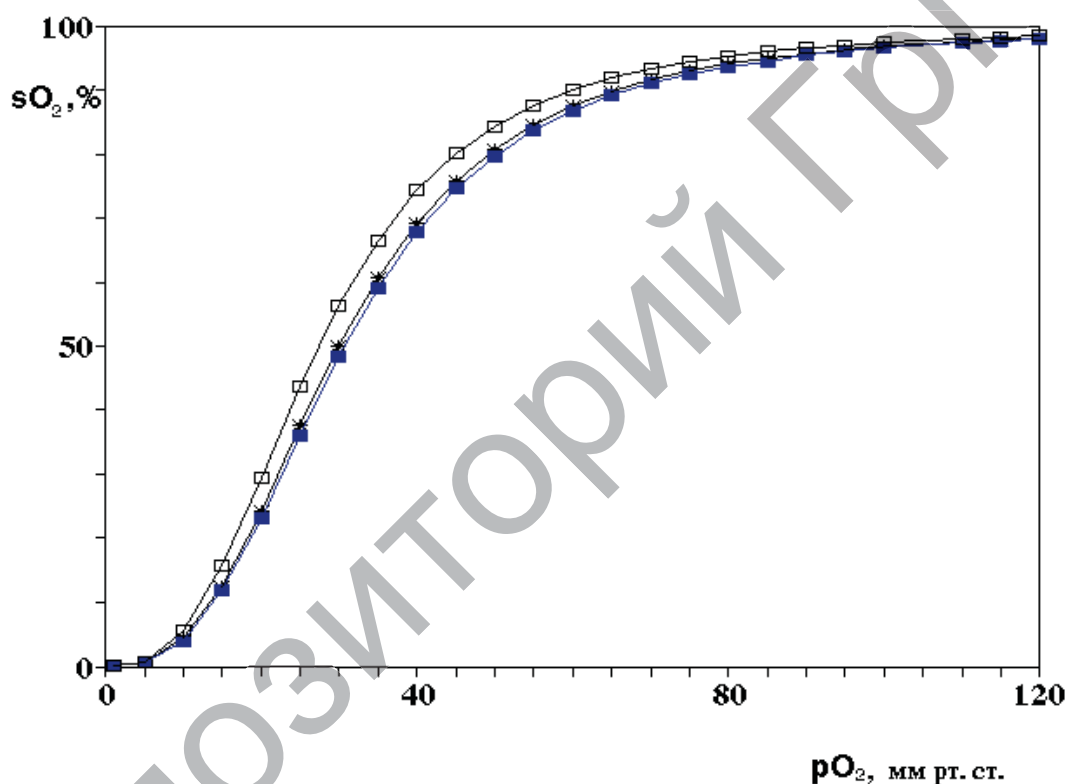


Рисунок 20. – Влияние лозартана в концентрации 50,0(■) и 250,0 нг/мл (□) на кривые диссоциации гемоглобина; *- контроль

Следует отметить, что при этом эналаприл и лозартан во всех исследованных дозах вызвали существенное уменьшение накопления МДА в плазме крови и снижение потенциала железо-индуцированной хемилюминесценции (табл.14). При исследовании сдвигов МДА и супероксиддисмутазы (СОД) в донорской крови под влиянием эналаприла в малой концентрации (0,4

нг/мл) в первые 5 мин. наблюдалась некоторая активация накопления МДА при отсутствии сдвигов активности СОД.

В наблюдениях на волонтерах эналаприл и лозартан, как и блокаторы кальциевых каналов, не вызывали заметных сдвигов $p50$ при взятии проб крови в период пика концентрации препаратов в плазме.

Таблица 14. – Влияние эналаприла и лозартана на размеры инфаркта и некоторые показатели ПОЛ у крыс с лигированием передней нисходящей ветви левой коронарной артерии

Серия опытов	РИМ, % массы ЛЖ	МДА, мкМ/л			Светосумма Fe-индуцированной ХЛ, усл. ед.		
		Исходн. данные	Через 4 часа	Сдвиги в % к исходу	Исходн. данные	Через 4 часа	Сдвиги в % к исходу
Контроль	47,38± 0,45	0,405± 0,006	0,644± 0,011	+59,35 ±0,39	0,450± 0,006	0,841± 0,014	+86,88± 0,22
Эналаприл, 0,1 мг/кг	36,90± 0,97*	0,403± 0,006	0,610± 0,012*	+49,30± +0,16	0,444± 0,007	0,745± 0,005*	+77,06± 0,32
0,5 мг/кг	35,29± 0,64*	0,406± 0,006	0,579± 0,008*	+41,16± 0,17	0,436± 0,006	0,778± 0,009*	+60,48± 0,70
Лозартан, 0,5 мг/кг	35,64± 0,74*	0,402± 0,005	0,592± 0,007*	+47,82± 0,12	0,431± 0,006	0,774± 0,012*	+78,59± 0,20
2,5 мг/кг	32,18± 1,13*	0,406± 0,005	0,547± 0,008*	+40,89± 0,11	0,438± 0,007	0,718± 0,012*	+64,04± 0,18

Примечание: * - достоверность различий с контролем ($p<0,05$);
РИМ – размер инфаркта миокарда; ЛЖ – левый желудочек

Влияние низкоэнергетического лазерного излучения (НЭЛИ) на СГК, по данным экспериментов и наблюдений на волонтерах. Достаточно длительная практика применения низкоэнергетического лазерного излучения в комплексной терапии ИБС [Кипшидзе Н.Н. и др., 1990; Сторожаков Г.И. и др., 2000 и др.] и отдельные сообщения о его положительном влиянии на СГК и микроциркуляцию в ишемизированных тканях [Кожекин В.В. и др., 1999; Spodaryk K., 2001; Berlin G. et al., 2002] указывают на необходимость учета сдвигов СГК при использовании НЭЛИ в системе терапии ИБС (рис.21).

Воздействие НЭЛИ на ферменты антиоксидантной защиты (каталаза, СОД), а также на гуанилатциклазу и NO-синтазу, которые рассматриваются как возможные первичные акцепторы энергии НЭЛИ, определяет целый ряд сдвигов КТФ крови [Бриль

Г.Е. и др., 1997; Владимиров Ю.А., 1999; Шигина Н.А. и др., 2002].

Исследование изменений СГК в аналитических опытах *invitro* (табл. 15) выявило тенденцию к снижению СГК при воздействии НЭЛИ в течение 15 минут (увеличение $p50$ до $32,02 \pm 1,02$ при $30,57 \pm 0,35$ мм рт. ст. в контроле). Этот существенный, хотя и статистически не достоверный сдвиг СГК может лежать в основе некоторого повышения высвобождения кислорода в гипоксических тканях [Гацура С.В. и др., 2004].

Исследование влияния НЭЛИ в наблюдениях на волонтерах показало, что однократное 15-минутное облучение сосудистого пучка в области локтевого сгиба не вызывало заметных изменений СГК.

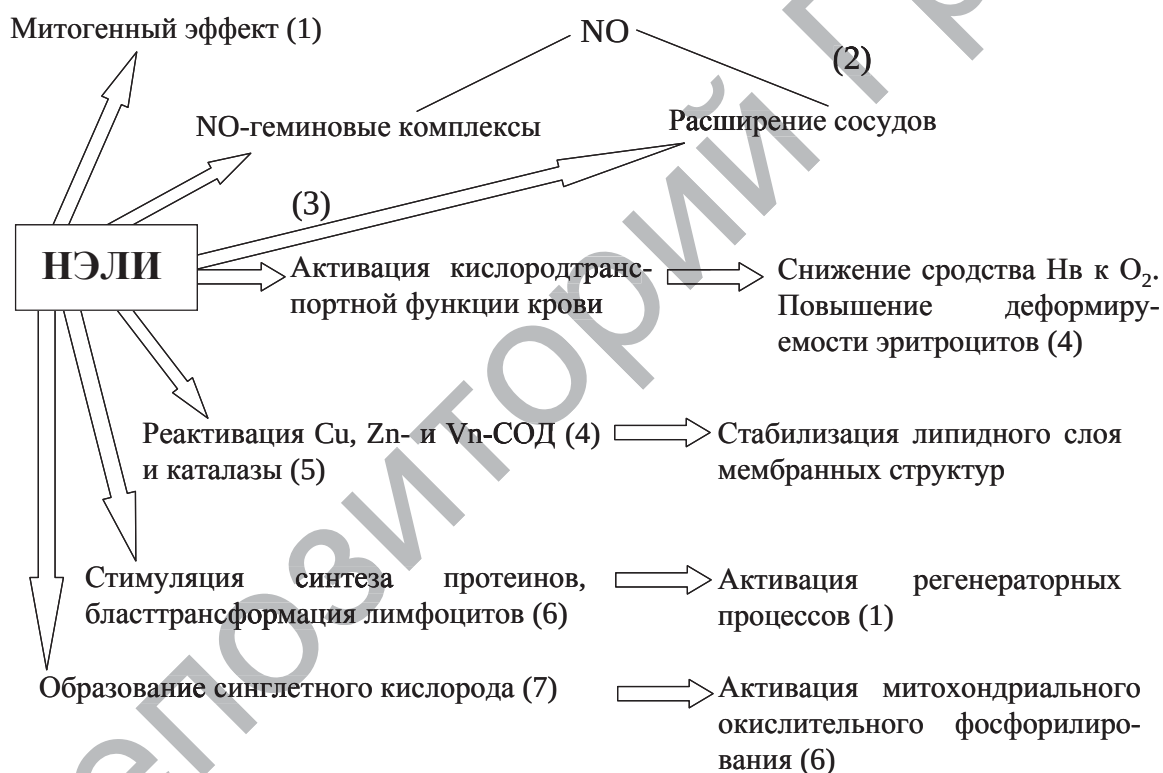


Рисунок 21. – Основные биологические эффекты низкоэнергетического лазерного излучения (НЭЛИ)

1 – Кошелев В.Н., 1980; Кожемякин Л.А. и др., 1979; Владимиров Ю.А., 1999; 2 – Бриль Г.Е., Бриль А.Г., 1997; 3 – Козлов В.И. и др., 1997; 4 – Кожекин В.В. и др., 1999; Горбатенкова Е.А. и др., 1999; 5 – Зубкова С.М., 1978; 6 – Кару Т.И., 1989; 7 – Захаров С. Д. и др., 1989

Таблица 15. – Влияние низкоэнергетического лазерного излучения на сродство гемоглобина к кислороду крови кролика

Продолжительность сеанса, мин.	n	p50, мм рт. ст.
Контроль	8	30,57±0,35
2	5	30,91±0,72
15	8	32,02±1,02

В заключение следует подчеркнуть, что рассмотренные выше данные о характере действия средств фармакотерапии ИБС и НЭЛИ на СГК могут быть полезны при дальнейшей разработке оптимальных схем современной индивидуализированной терапии кислороддефицитных состояний.

В этом же плане представляется перспективной оценка влияния на СГК и других средств, предлагаемых для терапии коронарной недостаточности.

ГЛАВА 2.

ГАЗОТРАНСМИТТЕРМОНООКСИД АЗОТА И КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА КРОВИ

В 1962 г. Perutz М. получил Нобелевскую премию за исследование структурно-функциональной организации гемоглобина, через 36 лет, в 1998 г., группа ученых из США [Furchgott R.F., Ignarro L.G., Murad F.] была удостоена этой премии за изучение сосудистых эффектов газотрансмиттера монооксида азота (NO). Два этих события привели к постановке новой проблемы, а именно взаимодействия гемоглобина с NO, конкретных механизмов его реализации и физиологического значения. Хотя гемоглобин как белок наиболее изучен, а NO является известной простейшей молекулой, они продолжают нас удивлять непредвиденными сложностями своих эффектов, особенно при совместном действии [Gross S.S., Lans P., 1999].

2.1 Кровь и L-аргинин-NO система

Присутствие различных соединений гемоглобина с NO по-разному влияет на СГК всей крови. NO может изменять СГК по следующим механизмам: переход гемоглобина из конформационного состояния R в T; повышение уровня эритроцитарного метгемоглобина; образование нитрозотиолов и дополнительных продуктов окисления гемоглобина [Head C.A. et al., 1997]. Метгемоглобин и SNO-Hb повышают СГК, а $\text{HbFe}^{2+}\text{NO}$ его снижает, соответственно, первые смещают КДО влево, а последний – вправо (рис.22). Величина p_{50} SNO-Hb, находящегося вне эритроцита, имеет значение менее 10 мм рт. ст. [Bonaventura C. et al., 1999], для раствора SNO-Hb (с 30% нитрозилированием $\beta 93$ -цистеина) составляет $4,3 \pm 0,27$ мм рт. ст. [Patel R.P. et al., 1999], а для $\text{HbFe}^{2+}\text{NO}$ его величина составляет $39,6 \pm 1,5$ мм рт. ст. [Kosaka H., Seiyama A., 1996]. Высокие дозы нитроглицерина (источника NO) вызывают увеличение образования $\text{HbFe}^{2+}\text{NO}$, коррелирующего с ростом значения p_{50} и соответствующим сдвигом КДО вправо [Kosaka H., Seiyama A., 1996]. В наших опытах у животных, получивших L-аргинин и подвергавшихся гипотермии, отмечается наименьший сдвиг КДО влево [Zinchuk V.V., Dorokhin-

aL.V., 2002]. Введение нитроглицерина в/б крысам приводило к увеличению метгемоглобина на 217,1% и $p50$ на 29,2%, а в условиях введения ЛПС и предварительного повышения СГК эти эффекты донора NO усиливались [Зинчук В.В., 2001б]. У пациентов с серповидноклеточной анемией, дышавших воздухом с низким содержанием NO в течение 45 минут, а также при инкубации такой крови с NO в течение 5 минут отмечались близкие изменения СГК ($p50$ уменьшалось примерно на 15% (у здоровых таких изменений не было, что, возможно, связано с малым объемом выборки) [HeadC.A. et al., 1997] и предполагает единый механизм формирования кислородсвязывающих свойств крови с участием NO, реализуемый на эритроцитарном уровне. Обработка крови разными концентрациями NO либо донорами NO (соль Анжели и др.) повышает СГК, линейно коррелирующее с уровнем метгемоглобина, что предполагает ведущую роль последнего в модификации транспорта кислорода кровью [HrinczenkoB.W. et al., 2000].

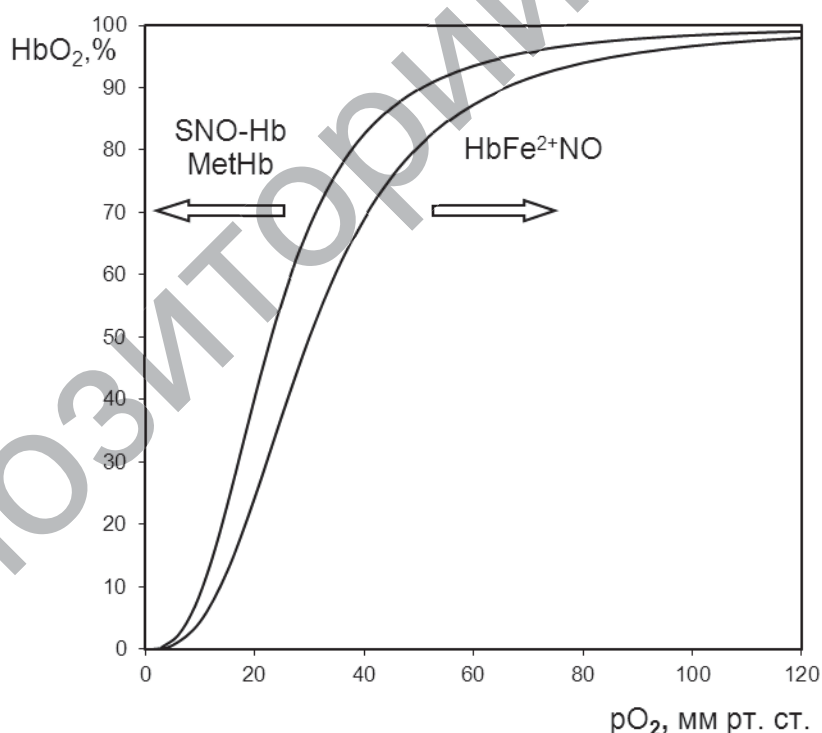


Рисунок 22. – Эффект NO-производных соединений на положение кривой диссоциации оксигемоглобина: MetHb– метгемоглобин, SNO-Hb– нитрозогемоглобин; $HbFe^{2+}NO$ – нитрозилгемоглобин

Гемоглобин, содержащий NO-группы, более устойчив к зависимо-му от O_2 переходу к Т-структуре. S-нитрозилирование

смягчает чрезмерное высвобождение NO, благоприятствуя R-структуре. Концентрация SNO-Hb и HbFe²⁺NO в крови такова, что на каждые из этих дериватов приходится 1000 тетрамеров обычного гемоглобина, и это делает относительно малым их влияние на кислородсвязывающие свойства крови при обычных условиях [Jia L. et al., 1996; Yonetani T. et al., 1998], но при концентрациях NO выше физиологических условий (при низком pH, добавлении инозитолгексафосфата, низкой температуре) это вполне возможно. Их влияние на модуляцию кислородсвязывающих свойств крови проявляется при высоких концентрациях (5 и более %), но в тоже время их эффект может иметь важное значение для процессов газообмена на уровне капилляра.

Разнообразные эффекты NO реализуются в условиях высокого содержания гемоглобина в крови. Существует парадокс: быстрая инаktivация NO с внутрисосудистой стороны эндотелиальной клетки, казалось бы, должна предотвращать достижение его функциональной концентрации на противоположной стороне, где гладкомышечные клетки сосудов осуществляют опосредуемую им вазодилатацию, но существуют физиологические барьеры, ограничивающие, но не исключаящие взаимодействие NO с гемоглобином и активным сохранением его биоактивности [Sonveaux P. et al., 2007]. Нитриты являются потенциальным региональным и системным вазодилататором, участвуя в реакциях с дезоксигемоглобином [Dejam A. et al., 2007]. Взаимодействие NO с гемоглобином ставит вопрос о паракринной и аутокринной функции NO. Молекула NO выступает в роли эффектора, изменяющего взаимодействие лиганда O₂ с активными центрами гема, что может служить для обеспечения локальной потребности O₂ клеток органов и тканей [Рубан М.К. и др., 2010]. Транспорт NO как гормона в организме проявляется при физиологических условиях, но еще в большей мере реализуется при высоких его уровнях [Schechter A.N., Gladwin M.T. 2003]. Предполагается, что реакция гемоглобина с NO служит не только для её гашения, но и для сохранения ее биоактивности. S-нитрозотиолы участвуют в регуляции функционирования системы дыхания, влияя на активность респираторного центра, легочную микроциркуляцию, сосудистый тонус легочных сосудов, констрикцию/дилатацию бронхиол, антимикробный эффект и др. [Gaston B. et al., 2006]. Серпо-

видноклеточные эритроциты имеют дефект экспорта биоактивности NO за счет повышенных уровней окисленных мембранных тиолов, ингибирующих перенос NO трансмембранным анионообменным белком-1, не способствуя образованию SNO-Hb и $\text{HbFe}^{2+}\text{NO}$ [Pawloski J.R. et al., 2005]. Взаимодействие молекул NO с Hb может быть обратимым, когда гемопротейд частично нитрозилирован и находится в Т-конформации, при субсатурационных уровнях NO сказывается мощный транс-лигандный эффект [Рубан М.К. и др., 2010]. Нитрит-индуцированное улучшение микроциркуляции связано с увеличением пула NO-производных в эритроцитах (почти в 40 раз) и отражает вклад гемоглобина (его R/T конформации), а именно высвобождение NO в Т-конформации [Rifkind J.M. et al., 2009].

В ряде наших опытов на разных моделях гипоксических состояний – лихорадка, перегревание, гипотермия, окислительный стресс, индуцированный ЛПС – было показано изменение КТФ крови при введении в организм веществ, изменяющих активность L-аргинин-NO системы (L-аргинин, селективные и неселективные ингибиторы NO-синтазы, доноры NO). Данная система вовлечена в регуляцию КТФ крови на действие ЛПС, обуславливая сдвиг КДО вправо [Zinchuk V.V., 1999]. Введение ингибитора NO-синтазы (N^G -нитро-L-аргинин) при лихорадке, индуцированной введением ЛПС, через 120 мин. сопровождалось увеличением $p50_{\text{станд}}$ с $33,7 \pm 1,1$ до $37,1 \pm 1,3$ мм рт.ст., что в частности обусловлено различными эффектами NO-производных гемоглобина на SGK [Зинчук В.В., Борисюк М.В., 1997]. Введение в организм крыс метилового эфира N^G -нитро-L-аргинина значительно снижает устойчивость животных к действию высокой внешней температуры и сдвигает КДО вправо (значение $p50_{\text{реал}}$ составило $42,3 \pm 1,19$, $p < 0,01$, в то время как в контроле $34,9 \pm 0,73$ мм рт.ст.) [Zinchuk V.V., Borisuk M.V., 1998]. У животных, получавших L-аргинин и подвергавшихся гипотермии, отмечается наименьший сдвиг КДО влево [Zinchuk V.V., Dorokhina L.V., 2002]. Введение нитроглицерина в/б крысам приводит к увеличению концентрации метгемоглобина на 217,1% и $p50$ на 29,2%, а в условиях введения ЛПС и донора NO эти показатели увеличивались [Зинчук В.В., Борисюк М.В., 1999]. Потенцирования этих эффектов при одновременной коррекции SGK (посредством использования

цианата натрия) и L-аргинин-NO системы не происходит, что отражает, по-видимому, истощение адаптационных резервов, реализуемых через NO-зависимые механизмы формирования кислородсвязывающих свойств гемоглобина [Зинчук В.В., 2001]. Коррекция окислительного стресса путем введения метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина и L-аргинина существенно не влияет на данный характер изменения SGK, в то время как селективный ингибитор индуцибельной изоформы NO-синтазы (L-лизина-N^G-ацетамидина) снижает $p50_{\text{станд}}$ на 8,6% ($p < 0,02$), а $p50_{\text{реал}}$ уменьшает на 10,6% ($p < 0,001$), соответственно, КДО сдвигалась влево [Глебов А.Н., Зинчук В.В., 2005].

Введение эритропоэтина и мелатонина крысам, подвергавшимся холодovому воздействию и последующему отогреванию, смещает положение КДО вправо, механизмы которого, судя по приросту концентрации нитрат/нитритов, имеют NO-зависимую природу [Зинчук В.В., Глуткин С.В. 2008; Hlutkin S.V., Zinchuk V.V., 2008]. Воздействие эритропоэтином на мышей в течение 14 суток приводит к увеличению содержания ретикулоцитов, эритроцитов, но у трансгенных животных (с дефицитом эндотелиальной NO-синтазы) этот эффект отсутствовал [d'Uscio L.V. et al., 2007]. Приведенные данные предполагают существование механизма формирования кислородсвязывающих свойств крови с участием NO, реализуемого, очевидно, на эритроцитарном уровне.

L-аргинин-NO система участвует в патогенезе реперфузионных повреждений печени: инфузия L-аргинина уменьшает нарушения прооксидантно-антиоксидантного состояния и тяжесть реперфузионных повреждений органа, ингибирование NO-синтазы приводит к увеличению активности свободнорадикальных процессов и срыву механизмов антиоксидантной защиты, а также к усугублению повреждений печени при данной патологии [Ходосовский М.Н., Зинчук В.В., 2003]. Через данный механизм также осуществляется влияние 1-метилникотинамида на параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса у крыс при ишемии-реперфузии печени [Ходосовский М.Н., Зинчук В.В., 2003]. Выявленные изменения КТФ крови, прооксидантно-антиоксидантного состояния печени при ишемии-реперфузии отражают кислородзависимый механизм патогенеза повреждений

органа и предполагают, что путем целенаправленного воздействия на кислородное обеспечение и L-аргинин-NO систему можно ослабить повреждающее действие реоксигенации на печень [Зинчук В.В., Ходосовский М.Н. 2006].

Вклад NO во внутриэритроцитарные механизмы регуляции кислородсвязывающих свойств крови изучался в его разных концентрационных отношениях в опытах *invitro*. При инкубации крови с нитрозоцистеином и в условиях оксигенации значение p_{50} стандартного было ниже на $3,9 \pm 0,70$ мм рт. ст. ($p < 0,05$), а p_{50} реального – на $3,4 \pm 0,95$ мм рт. ст. ($p < 0,05$), приводя к левостороннему сдвигу КДО, что может быть обусловлено не только присутствием метгемоглобина [Stepuro T.L., Zinchuk V.V, 2006]. Возможно, наблюдаемые сдвиги КДО влево в эксперименте с предшествующей оксигенацией (NO/гемоглобин – 1/2) обусловлены не только присутствием окисленной формы гемоглобина, но и нитрозилированной по 93 остатку цистеина в β -цепи. Взаимодействие крови с донорами NO в условиях дезоксигенации также увеличивает содержание метгемоглобина, что, однако, не вызывает ожидаемого снижения показателя SGK. Как показывает анализ результатов наших исследований, влияние доноров NO на SGK определяется условиями оксигенированности крови и соотношением выделяющегося из донора NO и гемоглобина в крови, что особо наглядно видно в опытах с дезоксигенацией. Уменьшение соотношения NO/гемоглобин до величины 1/4 в условиях предшествующей дезоксигенации вызывает левосторонний сдвиг КДО на фоне отсутствия достоверного увеличения количества метгемоглобина. Наблюдаемый рост SGK мог быть связан с образованием S-нитрозогемоглобина, образование которого, вероятно, обусловлено генерацией нитрозилирующих агентов в условиях данного эксперимента, когда NO медленно диссоциирует из комплекса с гемом и взаимодействует с кислородом.

Применение тиотриазолина в комплексном лечении острого панкреатита снижает проявления гипоксии и ацидоза за счет изменения кислородсвязывающих свойств крови и устранения дисбаланса L-аргинин-NO системы: отмечается значительное смещение КДО влево на 5-е сутки и смещение КДО на 10-е сутки вправо по отношению к положению КДО в группе крыс со стандартным лечением [Колешко С.В., 2009], снижение проявлений

метаболического ацидоза у пациентов на 5-е сутки и их полная компенсация к 10-м суткам, устранение гипоксии к 10-м суткам; снижение концентрации нитрат/нитритов по сравнению с группой без применения тиотриазолина – на 16,2% ($p < 0,01$) к 5-м суткам и 16,9% ($p < 0,001$) – к 10-м суткам) [Гарелик П.В. и др., 2009].

НО взаимодействует с O_2^- с образованием пероксинитрита, который может быть не только сильным окислителем, повреждающим различные биомолекулы, но имодификатором свойств эритроцитарной мембраны и гемоглобина через различные реакции.

Пероксинитрит способен воздействовать на эритроциты двумя путями: через окисление гемоглобина и путем нитрования тирозина эритроцитарной полосы 3 [Minetti M. et al., 2007]. В мембране эритроцитов, подвергшихся действию пероксинитрита, в концентрации, не приводящей к существенным изменениям его формы, выявлены (методом атомно-силовой микроскопии), изменения микро- и макрообласти с аномальной структурой мембранной поверхности, что свидетельствует об увеличении неоднородности ее механических свойств при действии этого фактора и может лежать в основе изменения ее транспортных функций [Стародубцева М.Н. и др., 2006].

Основной мишенью пероксинитрита в эритроците является гемоглобин. Взаимодействие пероксинитрита с окси- или дезоксигемоглобином приводит к образованию метгемоглобина [Стародубцева М.Н., Черенкевич С.Н., 2003].

В тоже время гемоглобин может обеспечивать защиту от пероксинитрита, выполняя функцию внутриклеточного антиоксиданта, что уменьшает вероятность образования его высоких концентраций и, следовательно, его повреждающего действия. Существует определенная связь между СГК и процессами его аутоокисления и окислительной модификации. Гемоглобин выступает в роли редокс-активного соединения, формируя псевдопероксидазный каталитический цикл, возникающий между Fe^{3+} и Fe^{4+} при поглощении гемоглобином H_2O_2 [Alayash A.I., 1999]. Возможная роль кислородсвязывающих свойств крови в модифицировании механизмов клеточной сигнализации: недостаток кислорода ведет к изменению редокс-состояния гемоглобина ($HbFe^{3+}$ и $HbFe^{4+}$), что, в свою очередь увеличивает экспрессию таких про-

теинов, как фосфорилирование гипоксически индуцибельного фактора-1 α и гемоксигеназы [Yeh L.H., Alayash A.I., 2003]. Гемоглобин, регулируя содержание NO в том или ином регионе организма, формирует определенный уровень прооксидантно-антиоксидантного состояния. При нормальных физиологических условиях, когда количество образуемого NO невелико, прооксидантные эффекты пероксинитрита и H₂O₂ угнетаются антиоксидантной функцией NO, а в условиях сдвига прооксидантно-антиоксидантного баланса, чрезмерного образования O₂⁻ и, соответственно, пероксинитрита и H₂O₂ реализуется прооксидантный эффект NO [Alayash A.I., 2000]. SGK, регулируя уровень NO, может вносить вклад в равновесие между ним и O₂⁻ в сосудистой сети.

Инкубирование венозной крови с пероксинитритом (в значимом соотношении с гемоглобином 1:100) приводит к повышению SGK. Отмечается снижение (по отношению к контролю) величины *p*50 стандартного на 3,65 $\pm$ 1,28 мм рт.ст. ($p < 0,05$) и реального – на 4,47 $\pm$ 1,59 мм рт.ст. ($p < 0,05$) содержание метгемоглобина при этом возрастает на 354,0% ($p < 0,05$) при сравнении с контролем, на 416,5% ($p < 0,05$) больше содержалось нитритов в плазме, чем в контроле, хотя в эритроцитах данный показатель оставался неизменным [Зинчук В.В., Степура Т.Л., 2006]. Вероятно, данный эффект реализуется через образование разных форм гемоглобина: окисленной по гему и модифицированной по его аминокислотным остаткам. Вероятно, эффект пероксинитрита на положение КДО цельной крови определяется непосредственными продуктами его взаимодействия с гемоглобином. В нашей экспериментальной модели были выбраны относительно высокие соотношения ONOO⁻/гемоглобина, так как концентрации NO в таких отделах сосудистой системы, как артериолы, капилляры, гораздо выше, чем в крови, содержащейся в крупных сосудах. Основные механизмы реакции пероксинитрита с аминокислотами реализуются через следующие формы пероксинитрита: HOONO, ONOO⁻, ONOOCO₂⁻ [Pietraforte D. et al., 2003]. Результат реакций, предположительно, определяется факторами (*p*H, *p*CO₂, *p*O₂), которые влияют на соотношение этих форм пероксинитрита. На основании данных результатов можно предположить, что пероксинитрит является не только цитотоксичным окислителем, но и

фактором регуляции кислородсвязывающих свойств гемоглобина.

Долевой вклад NO в формирование кислородсвязывающих свойств, по мнению Gladwin M.T. et al. [2000], невелик, но следует учитывать, что модуляция этих свойств есть результат действия многих факторов (pH , pCO_2 , температура, 2,3-ДФГ и т.д.) и каждый из них играет определенную роль. Внутриэритроцитарная система регуляции СГК, обладающая относительной автономией, обеспечивает адаптивные изменения кислородсвязывающих свойств крови, в этой системе функцию триггера аллостерической регуляции гликолиза и своеобразного аппарата сравнения соответствия метаболизма функциональному статусу выполняет 2,3-ДФГ [Борисюк М.В., 1984], но, как показывают наши данные, в этом может быть задействован и NO.

Образование NO – процесс кислородзависимый. Кислород является одним из субстратов, необходимых для синтеза NO (константа Михаэлиса для него в этой реакции лежит в физиологической области), что позволяет предполагать его лимитирующую роль для образования NO [LeCras T.D., McMurtry I.F., 2001]. При $pO_2 < 30$ мм рт.ст. ферментативный синтез NO снижается [Kourembanas S. et al., 1991]. Выявлена тесная корреляция между уровнями NO и pO_2 в тканях мозга [James P.E. et al., 1999]. O_2 является важным фактором, определяющим активность NO-синтазы в гипоксических тканях или в сосудистом русле, где в норме встречаются pO_2 в области 40 мм рт.ст.; активность NO-синтазы может ингибироваться гипоксией [Whorton A.R. et al., 1997]. В гепатоцитах крыс выявлен механизм кислородной регуляции экспрессии гена индуцибельной изоформы NO-синтазы: низкое pO_2 индуцирует синтез NO, что может иметь значение для формирования резистентности данных клеток к ишемическому повреждению [Vargiu C. et al., 2000]. Концентрация $HbFe^{2+}NO$, судя по его ЭПР-спектроскопии в артериальной и смешанной венозной крови нормоксических и гипоксических овец при ингаляции NO, зависит от уровня O_2 и NO, существует выраженная отрицательная корреляция между уровнем $HbFe^{2+}NO$ и степенью насыщения крови [Tanaka N. et al., 1998]. Метаболический цикл NO может активироваться при различных гипоксических состояниях, так как в условиях дефицита O_2 восстановленные гемсо-

державшие белки переносят электроны на ионы NO_2^- , восстанавливая их до NO [Меньщикова Е.Б. и др., 2000].

NO через эффект на СГК и регуляцию кровотока может влиять на процессы оксигенации тканей при различных гипоксиях. В тоже время механизмы транспорта O_2 и, в частности, кислородсвязывающие свойства крови, могут определять активность L-аргинин- NO системы. Введение предшественника NO -L-аргинина может вызывать положительный эффект на более поздних стадиях гипотермии и сопровождаться менее выраженными нарушениями транспорта кислорода кровью, что, возможно, обусловлено его эффектом как на гемоглобин, так и на кровоток [Дорохина Л.В., Зинчук В.В., 2000; Zinchuk V.V., Dorochina L.V., 2002]. Очевидно, эффект коррекции L-аргинин- NO системы обусловлен как результатом прямого действия NO на гемоглобин, так и опосредованно – через кислородзависимый механизм регуляции образования NO .

На уровне капилляров малого круга кровообращения это может быть дополнительным механизмом, способствующим оксигенации крови, а на уровне микроциркуляции большого круга – оптимизирующим десатурацию крови и, соответственно, доставку кислорода в ткани (рис.23).

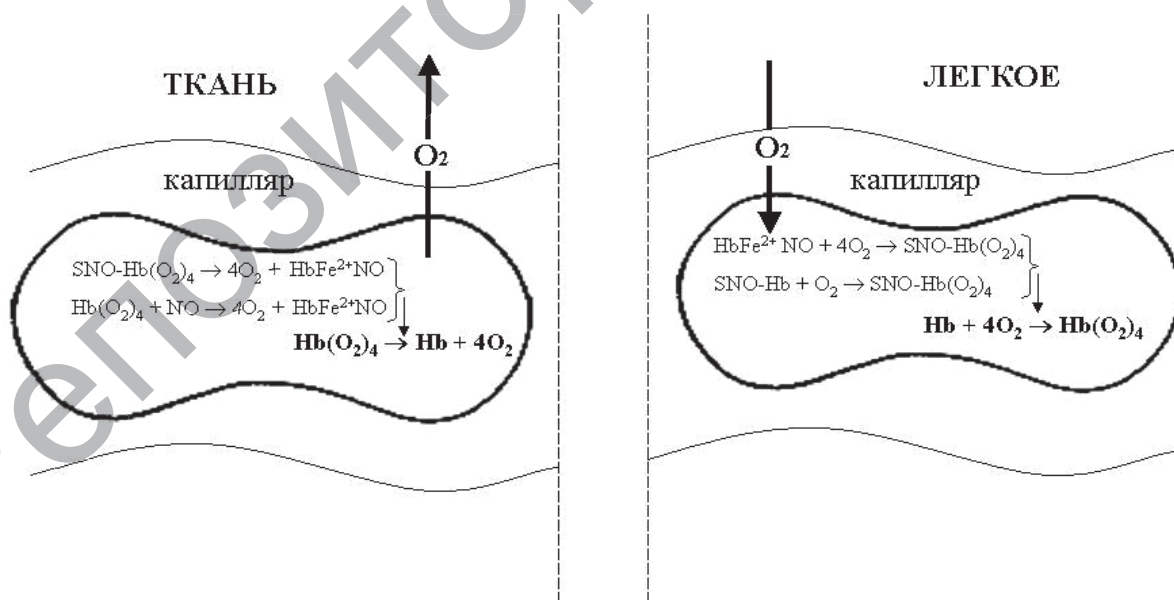


Рисунок 23. – Механизм влияния NO на процессы оксигенации и десатурации крови в капиллярах малого и большого кругов кровообращения [Зинчук В.В., 2003]

В капиллярах легкого осуществляется зависимый от O_2 аллостерический переход гемоглобина ($T \rightarrow R$), обусловленный переносом NO-группы с гема на β^{93} -цистеин, – соответственно, в артериальное русло поступает молекула $SNO-Hb(O_2)_4$. В капиллярах большого круга кровообращения осуществляется обратный переход ($R \rightarrow T$) с высвобождением NO и инициирования им сосудистой дилатации, либо высвобождение O_2 , последующей оксигенации тканей и образованием $HbFe^{2+}NO$, который может влиять и на SGK.

Кислородсвязывающие свойства крови влияют на состояние L-аргинин-NO системы, и в тоже время она может определять функциональные свойства гемоглобина путем модификации его сродства к кислороду через внутриэритроцитарные механизмы регуляции, кислородзависимый характер образования NO, регуляцию сосудистого тонуса, действие пероксинитрита (рис.24). Их влияние на модуляцию кислородсвязывающих свойств крови может иметь важное значение для процессов газообмена за счет гетерогенности эндотелия по NO-образующей функции и особенностей объемного содержания крови в разных отделах сердечно-сосудистой системы (в терминальных артериолах и капиллярах).

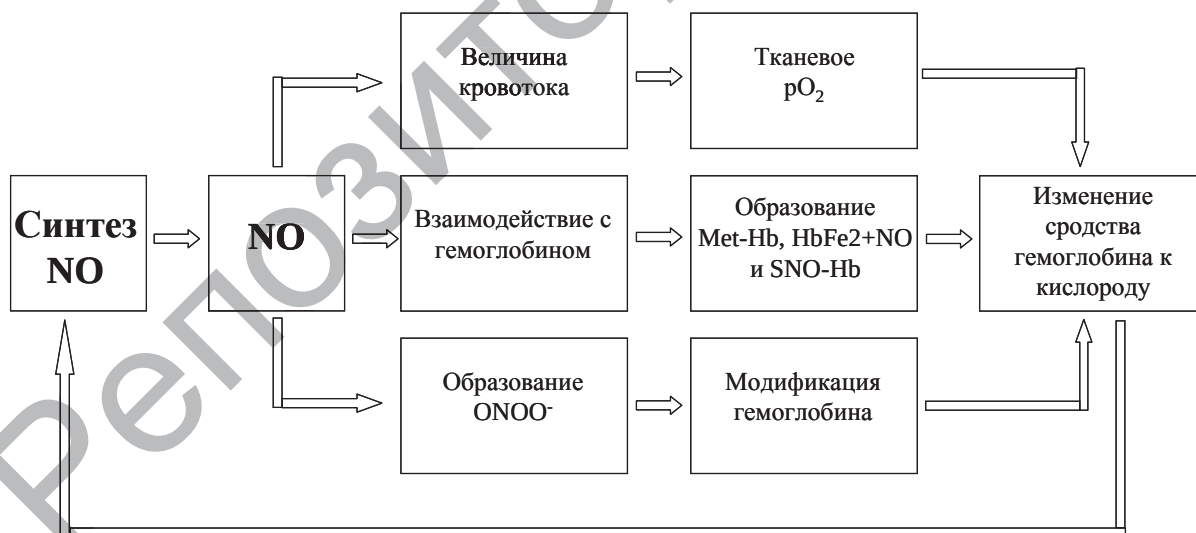


Рисунок 24. – Основные механизмы реализации эффекта NO на сродство гемоглобина к кислороду [Зинчук В.В., 2003]

Эволюция наших представлений о взаимодействии NO с гемоглобином прошла сложный путь: от понимания роли гемогло-

бина только как фактора элиминации NO до его значения как депо, и далее – как модификатора кислородсвязывающих свойств гемоглобина. Очевидно, данные изменения СГК наиболее благоприятны для адекватной оксигенации тканей. Анализ литературы и результаты выполненных нами исследований свидетельствуют о том, что L-аргинин-NO система способна участвовать в формировании КТФ крови при окислительном стрессе и гипоксии. NO может определять СГК и, соответственно, процессы оксигенации и деоксигенации в капиллярной сети малого и большого кругов кровообращения, а также другие функции крови.

2.2 Кислородсвязывающие свойства гемоглобина в генезе дисфункции эндотелия

Эндотелий выступает в роли интегратора и передатчика сигналов через синтез различных вазоконстрикторных, вазодилаторных и ремоделирующих факторов. При заболеваниях сердечно-сосудистой системы одним из наиболее вероятных мест повреждения организма является эндотелий сосудистой стенки [Зотова И.В. и др., 2002; Gryglewski R.J., 2005]. Эндотелий – не просто структурное обрамление сосудов, а функционально активный орган с набором разнообразных функций. Его значимость иллюстрируется известной фразой J. Vane «Эндотелий – маэстро сердечно-сосудистой системы» [Vane J.B., 1994].

В клиническую практику прочно внедрился новый термин – дисфункция эндотелия (ДЭ), которая играет существенную роль в генезе многих патологических состояний системы кровообращения. В большинстве исследований данный термин используется как синоним дисбаланса эндотелиального синтеза NO, который является сигнальным агентом, участвующим в опосредовании его функций и основное его количество, образуемое в организме, продуцируется именно в эндотелии [Аронов Д.М., Лупанов В.П., 2006]. Многочисленные исследования убедительно свидетельствуют о ведущей роли L-аргинин-NO системы в молекулярных основах функционирования сосудистого эндотелия и дисфункции, значение которой определяется, с одной стороны, участием NO в осуществлении данными клетками своих функций, с другой – возможностью коррекции возникающих нарушений путем воздействия на разные звенья этой системы [Марков Х.М., 2005].

При действии кратковременных стрессорных агентов отмечается увеличение продукции оксида азота, тогда как длительные повреждающие воздействия приводят к снижению продукции NO, так как кратковременное действие стресса и адекватная стресс-реакция служит условием для усиления функционирования органов и мобилизации организма, в то время как интенсивная длительная стресс-реакция оказывает повреждающее действие на органы и ткани и из звена адаптации превращается в звено патогенеза различных заболеваний [Ивашкин В.Т., Драпкина О.М., 2013].

В последние годы проблема изучения физиологических эффектов NO приобрела новый аспект, а именно его взаимодействие с разными компонентами крови, в частности с гемоглобином [González-Alonso J. et al., 2002; Зинчук В.В., 2003; McMahon T.J., Doctor A., 2006]. Дефицит кровотока, нарушение процессов транспорта кислорода в ткани в свою очередь являются важными факторами, определяющими образование NO в организме [Zinchuk V.V. et al., 2004]. Различные физиологические и патологические условия могут модулировать уровень экспрессии eNOS в эндотелиальных клетках как через транскрипционные механизмы, так и через посттранскрипционные, что открывают широкие возможности для осуществления базисной терапии при заболеваниях сердечно-сосудистой системы [Кравченко Н.А., Ярымыш Н.В., 2008].

КТФ крови и L-аргинин-NO система через сопряженные механизмы участвуют в развитии ДЭ. NO может принимать участие в регуляции кислородного обмена, но влияние этого вещества на конформацию гемоглобина (Hb) и эффективность связывания с ним лигандов практически не изучены [Максимов Г.В. и др., 2005.] Возможно создание новых путей коррекции ДЭ через целенаправленное воздействие на КТФ крови и L-аргинин-NO систему.

Для данной реакции требуется соответствующий фермент NO-синтаза. На сегодняшний день дискутируется значимость 3-х основных изоформ NO-синтазы: нейрональной (I), синтезируемой в ряде нейронов центральной и периферической нервной системы; индуцибельной (II), образуемой преимущественно макрофагами в ответ на действие ряда патологических факторов и, возможно, принимающей участие в вазоактивных эффектах при эн-

дотоксиновом шоке; а также эндотелиальной или конститутивной NO-синтазы (III), вырабатываемой эндотелием практически всех сосудов организма, включая и лимфатические. Данная изоформа NO-синтазы всегда присутствует в эндотелиальных клетках. Ее активность определяется уровнем Ca^{2+} .

Активность разных изоформ NO-синтаз колеблется в широком пределе: тип I – (нейрональная) NO-синтаза имеет максимальное значение около 300, тип II (макрофагальная) – до 1000, тип III (эндотелиальная) – около 15 нмоль/мг/мин [Меньщикова Е.Б. и др., 2000]. Измерение содержания NO в просвете сосудов на разных участках сердечно-сосудистой системы показывает диапазон его изменений в пределах 0,3-1,3 мкмоль [Vallance P. et al., 1995]. По измерениям с помощью микроэлектродной техники установлено, что эндотелий может вырабатывать в 10-40 раз больше NO, чем это требуется для активации растворимой гемсодержащей гуанилатциклазы [Malinski T. et al., 1992]. В печени мышцей NO продуцируется со скоростью 2 мкмоль/г/час, а в других тканях – в 5-10 раз меньше [Галаган М.Е. и др., 1997]. В ткани миокарда его содержание за счет синтеза эндотелиальной NO-синтазы составляет 100-300 пмоль [Kelm M., 1999]. Регуляция гена eNOS представляет собой сложный процесс, в результате которого конечная концентрация функциональной eNOS является следствием действия многих факторов, включая активность промоторного ответа, действие факторов, обеспечивающих разный период полужизни мРНК, регуляцию экспрессии в ответ на различные физиологические стимулы [Кравченко Н.А., Ярмыш Н.В., 2008].

Общее количество, синтезируемого NO, судя по уровню NO_3^- , колеблется от 150 до 1000 мкмоль/сут [Tannenbaum S., 1994]. Образование NO эндотелием *insitu* или в культуре примерно равно 4 пмоль/кг белка/мин, что в перерасчете на общую массу эндотелия 1,5 кг для организма человека составляет 1728 мкмоль/сут [Kelm M., 1999]. Оценка образования NO в организме (методом вдыхания стабильного изотопа кислорода $^{18}\text{O}_2$) показала, что скорость его образования составляет $0,38 \pm 0,06$ мкмоль/кг/час, а общее суточное количество – 600-700 мкмоль [Sakinis A. et al., 1999]. Продуктами разложения NO является нестабильный, но специфический NO_2^- и более стабильный и менее специфичный NO_3^- , более 90% первого имеет эндотелиальную

природу происхождения в организме человека [Kelm M., Rath J., 2001]. Для регулирования уровня NO в разных регионах существуют механизмы, как то S-нитрозотиолы и динитрозильные комплексы негемового железа [Ванин А.Ф., 2001]. NO количественно и функционально отличается от O₂. Для удовлетворения основных метаболических потребностей организма необходимы миллимолярные количества O₂ и наномолярные концентрации NO. Его основное количество (более 90%), образуемое в организме (L-аргинин-NO система), приходится на эндотелий. В данных клетках образуется в сотни раз больше NO, чем это требуется для регуляции кровотока.

Эритроциты несут примерно в 1000 раз больше NO, чем требуется для регуляции кровотока или дилатации кровеносных сосудов [Carter T.D. et al., 1997]. Если бы NO превращался при артериовенозном прохождении в соответствующие биоактивные эквиваленты, то возникала бы гипотензия, а NO-синтаза оказалась бы не способной поддерживать такие эндогенные количества SNO-Hb. Высвобождение нитрозотиолов в таком объеме (из гемоглобина) при каждом артериовенозном цикле несовместимо с жизнью, так как оно должно вызывать угрожающую для жизни гипотензию и шунтирование крови (регуляция кровотока требует лишь малых наномолярных количеств нитрозотиолов); к тому же это создавало бы в организме непереносимую метаболическую нагрузку. В сигналах при артериовенозном прохождении для регуляции кровотока участвует лишь малая часть (0,1-1%) связанных с гемоглобином SNO-групп [Jia L. et al., 1996]. Возникает вопрос: почему присутствующие *in vivo* количества SNO-Hb и HbFe²⁺NO столь громадны, для чего они сохраняют свою связанную с NO активность. По мнению McMahon T.J. et al. [2000], фундаментальным вопросом для понимания функции SNO-Hb является не то, как может высвобождаться достаточное количество нитрозотиолов, чтобы расширять кровеносные сосуды, а то, как эритроциты могут запастись громадную часть NO, когда их гемоглобин регулярно контактирует с гипоксической тканью и внутриклеточным глутатионом из среды. Гемоглобин регулирует вытеснение NO, а так как кровоток регулируется наномолярными уровнями нитрозотиолов, его образование для расширения кровеносных сосудов и доставки O₂ намного важнее, чем свя-

занное с ним изменение оксигенации крови, которое может происходить лишь при его уровнях выше физиологических. На наш взгляд, значения NO-соединений с гемоглобином необходимо оценивать и через их эффект на СГК.

В сосудистой системе существуют достаточно значимые соотношения NO к гемоглобину (1 к 100 и даже более, 1:20-50), а в таких ее отделах, как артериолы и капилляры, его концентрация гораздо выше, чем в крови, содержащейся в более крупных сосудах. Данный факт можно объяснить существующими различиями NO-синтазной активности эндотелия на протяжении сосудистой системы, которая, как было подтверждено иммуногистологическими исследованиями, в артериолах максимальна, а в венах значительно снижена [KelmV., RathJ., 2001]. Кроме того, соотношение объема крови, приходящейся на терминальные артериолы и капилляры, к площади поверхности данного отдела сосудистого русла, наименьшее. Это позволяет предположить, что количество молекул гемоглобина, взаимодействующих с NO, в микроциркуляторном русле будет большей, чем в остальных отделах сосудистой системы [Зинчук В.В., 2003; ZinchukV.V. et al., 2004]. Относительный вклад эндотелия и разных эритроцитарных источников NO в его общую доступность изменяется вдоль сосудистого дерева, что отражает влияние этих различных источников в макро- и микроциркуляции [Kleinbongard et al., 2007]. Изменение концентрации NO_2^- в плазме после стимуляции цельной крови L-аргинином зависит от ее дозы в физиологической области, что указывает на возможность жёсткого контроля активности NO-синтазы в эритроцитах доступностью субстрата [Kleinbongard P. et al., 2006]. Эритроциты, секвестрируя NO в терминальных артериолах и капиллярах, уменьшают его участие в вазодилатации и тем самым участвуют в реализации КТФ крови. Регуляторные механизмы эритроцитарной NO-синтазной активности могут быть мишенью ряда терапевтических воздействий, обуславливая адекватную деформацию либо дезорганизацию плазматической мембраны [OzüyamanB. et al., 2008].

Существует гетерогенность эндотелия по NO-образующей функции по ходу сосудистого русла. Иммуногистологические исследования указывают, что экспрессия эндотелиальной NO-синтазы снижается в разных отделах сосудистой системы с

уменьшением диаметра, в артериолах она наиболее высока, а в венах существенно меньше [WilliamF., 2007]. При значимом артериовенозном градиенте наблюдаемая неоднородность распределения активности эндотелиальной NO-синтазы отражает функциональные особенности каждого эндотелиального компонента. Так, базальный уровень синтеза NO в артериях выше, чем в венах. Содержание NO в артериальной крови у здоровых женщин, судя по величине $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$, гораздо выше, чем в венозной ($45,1 \pm 17,7$ в сравнении с $22,5 \pm 8,5$ мкмоль) [CicinelliE. et al., 1999]. Исследование содержания нитритов у добровольцев в плазме крови, взятой из локтевой артерии и антекубитальной вены, характеризовалось наличием незначительного артериовенозного градиента, но существенно возраставшего в условиях стимуляции эндотелия ацетилхолином [LauerT. et al., 2001]. В исследовании на добровольцах показано, что содержание NO_2^- и нитрозилгемоглобина в артериальной крови постоянно выше, чем в венозной [CannonR.O. et al., 2001]. Наличие артериовенозного градиента с учетом того, что время одного цикла движения для эритроцита составляет около 27 сек, а на участке артерия-вена – еще меньше, что означает наличие быстрого механизма высвобождения NO [GowA.J. et al., 1999]. Вдыхание NO существенно повышает уровень нитрозилированного гемоглобина в крови и его артериовенозный градиент [GladwinM.T. et al., 2001], что, по мнению этих исследователей, предполагает ведущую роль взаимодействия NO с гемом в его метаболизме кровью. Важно отметить, что в условиях ингибирования NO-синтазы наблюдалось выраженное снижение уровней NO_2^- (более 50%), характеризующееся сравнительно большим артериовенозным градиентом, отражая происхождение NO_2^- , измеряемого в венозных отделах, из сосудов предплечья [LauerT. et al., 2001].

Артериовенозная разница содержания NO-производных есть, по-видимому, следствие различной NO-синтазной активности эндотелия по ходу сосудистой системы (его гетерогенности), и это значимо для СГК.

Следует также учитывать особенность объемного содержания крови в разных отделах сердечно-сосудистой системы. На долю терминальных артериол и капилляров приходится 69% от общей площади сосудистой системы, венул и вен – 30,5%, а объ-

емы содержащейся в них крови составляют 10 и 75%, соответственно [Шмидт Р., Тевс Г., 1996]; соответственно, объемы крови, приходящиеся на единицу площади артериол и капилляров, будут наиболее высоки. Большая часть этих клеток и контактирующей с кровью поверхности относятся к эндотелиальным клеткам капилляров. В этой зоне происходит обмен питательных веществ и гормонов, облегчаемый сравнительно большим контактом площади поверхности эндотелия с относительно малым объемом крови (до 5000 см²/мл) [vanHinsbergh V.W.M., 2001]. В то же время артерии и вены содержат большое количество крови, но имеют небольшую площадь эндотелиальных клеток (<10 см²/мл). Следовательно, эти клетки микрососудов вносят в циркулирующие факторы плазмы намного больший вклад, отражающий функцию эндотелия, нежели в крупных сосудах. Это предполагает более высокое содержание NO и его производных на микроциркуляторном участке сосудистого русла (в 100 и более раз) и, соответственно, его большую долю, взаимодействующую непосредственно с компонентами крови. Экспрессия эндотелиальной изоформы NO-синтазы снижается с уменьшением диаметра сосудов, кроме того, снижается скорость кровотока и взаимодействия клеток крови с эндотелиальными клетками, что обеспечивает прямое взаимодействие между эритроцитами, вырабатывающими NO, и другими клетками, микрососудистым эндотелием, и указывает на потенциальную роль эритроцитарной NO-синтазы в капиллярах [Kleinbongard P. et al., 2007]. Количество NO, образуемое эритроцитами на площадь поперечного сечения сосудов, может колебаться по ходу сосудистой сети, в зависимости от отношения размера сосуда к числу красных клеток крови.

NO, вырабатываемый в сосудистом эндотелии, прежде чем достичь Hb в эритроците, преодолевает следующие барьеры: мембрана эндотелиальных клеток; бесклеточная зона на сосудистом краю мигрирующего "столбика" эритроцитов, создаваемой градиентами скорости кровотока; неперемешиваемый слой крови вокруг движущихся эритроцитов и их мембрана [Sonveaux P. et al., 2007]. Реакция NO с гемической группой гемоглобина может быть частично ограничена гидрофобным компонентом клеточной мембраны, лимитируя процесс его диффузии в эритроцит [Liu X. et al., 1998].

Представления о функциональном взаимодействии NO и Hb при физиологических условиях постоянно меняются: эритроциты первоначально характеризовались исключительно как гасители NO (Hb как ловушка NO), затем как структуры, способные эффективно регулировать биоактивность NO [Sonveaux P. et al., 2007]. S-нитрозогемоглобин играет роль датчика местной оксигенации ткани и переносчика биоактивности NO на местном, органном и системном уровнях, в частности с помощью кислородного сенсора Hb сопрягает изменения кровотока с изменениями тканевой потребности O_2 , а эритроциты регулируют свою главную функцию – доставку O_2 [Stamler J.S. et al., 1997]. Присутствие этих соединений гемоглобина с NO может по-разному влиять на СГК всей крови: метгемоглобин и нитрозогемоглобин его повышают, а нитрозилгемоглобин снижает. Величина $p50$ нитрозогемоглобина, находящегося вне эритроцита, имеет значение менее 10 мм рт.ст., а в растворе (с 30% нитрозилированием $\beta 93$ -цистеина) его величина составляет $4,3 \pm 0,27$ мм рт.ст., а для нитрозилгемоглобина – $39,6 \pm 1,5$ мм рт.ст. [Зинчук В.В., 2005]. Состояние кислородсвязывающих свойств есть результат действия многих факторов и каждый из них имеет определенную роль.

Предполагается участие NO в регуляции функциональных свойств гемоглобина в сосудистом компартменте. При концентрациях NO выше, чем это требуется для обеспечения дилатации кровеносных сосудов, возможно его влияние на кислородсвязывающие свойства крови. Оценивая взаимодействие гемоглобина с NO, последний рассматривают как лиганд, определяющий КТФ крови. NO – не просто гомотропный лиганд, способный окислять гемовую группу, нитрозилировать β -цистеин и образовывать стабильный интермедиат α -HbNO, он также может быть редокс-фактором, положительным гетеротропным или отрицательным гомотропным эффектором [Frehm E. et al., 2004].

Разные по происхождению молекулы NO реагируют с SH-группами белков и прежде всего альбуминами с образованием долгоживущих комплексов RSNO, обладающих вазодилаторным действием. Среди этих соединений наиболее значимым является S-нитрозоглутатион. Внутри эритроцита существует равновесие между NO, связанным с тиолами в гемоглобине (S-нитрозогемоглобин), и мембранным белком полосы 3, на которое

влияет локальное pO_2 , регулируя тем самым вазодилатацию в соответствии с метаболическими потребностями [Stamler J.S., 2004]. SH-группа S-нитрозотиола существенно защищает NO от гашения присоединением к гему.

Равновесие между ними связано с конформацией белка: образование S-нитрозогемоглобина облегчается в R-структуре, а нитрозилгемоглобин преимущественно образуется в T-структуре. Высвобождению NO из тиолов способствуют дезоксигенация и окисление гема (T-структура, высокоспиновая), что согласуется с термодинамическими особенностями его связывания [Eaton W. et al., 1999]. Первичным аддуктом гемоглобина и NO, образуемого при вдыхании NO, у нормальных индивидуумов является нитрозилгемоглобин и в небольшом количестве – S-нитрозогемоглобин [Gladwin M.T. et al., 2002]. Глутатион влияет на равновесие S-нитрозо- и нитрозилгемоглобин, что оказывает эффект на процессы оксигенации и деоксигенации крови в капиллярах малого и большого кругов кровообращения. NO, высвобождаемый из S-нитрозогемоглобина в присутствии глутатиона, не вызывает заметных сосудистых эффектов в изолированном лёгком в связи с быстрым окислением NO и образованием метгемоглобина [Deem S. et al., 2001]. Главным продуктом взаимодействия восстановленного глутатиона с S-нитрозогемоглобина *in vivo*, вероятно, является нитрозилгемоглобин, за счёт чего происходит модификация SGK, сдвиг КДО вправо. Гемоглобин способен выполнять функцию депо NO в микроциркуляторной сосудистой сети. Предполагается участие монооксида азота в изменении кислородсвязывающих свойств крови при проведении его ингаляции (рис.25).

Предполагается существование транспортного и высвобождающего механизма O_2 и NO в плацентарной циркуляции; O_2 и NO диффундируют к фетальному гемоглобину и высвобождаются на уровне тканей плода [Clementi M.E. et al., 2003]. Эффект популяции S-нитрозогемоглобина на доставку NO к тканям может быть весьма значительным, так как механизм его высвобождения из данного соединения гемоглобина весьма чувствителен к дезоксигенации и особо проявляется при значительном изменении pO_2 (в гипоксических областях) [Patel R.P. et al., 1999]. Высвобождение большого количества NO

из Hb-NO комплексов может приводить к тому, что эти молекулы, конкурируя с СОД, взаимодействовали бы с супероксидными анион-радикалами, а, это, в свою очередь, обуславливало бы образование пероксинитритов с последующим высвобождением диоксида азота (NO_2) и ОН-радикалов, которые вызывают денатурацию белков и повреждают ненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав липидов мембран [Дубинина Е.Е. и др., 2002; McMahon T.J. et al., 2000].

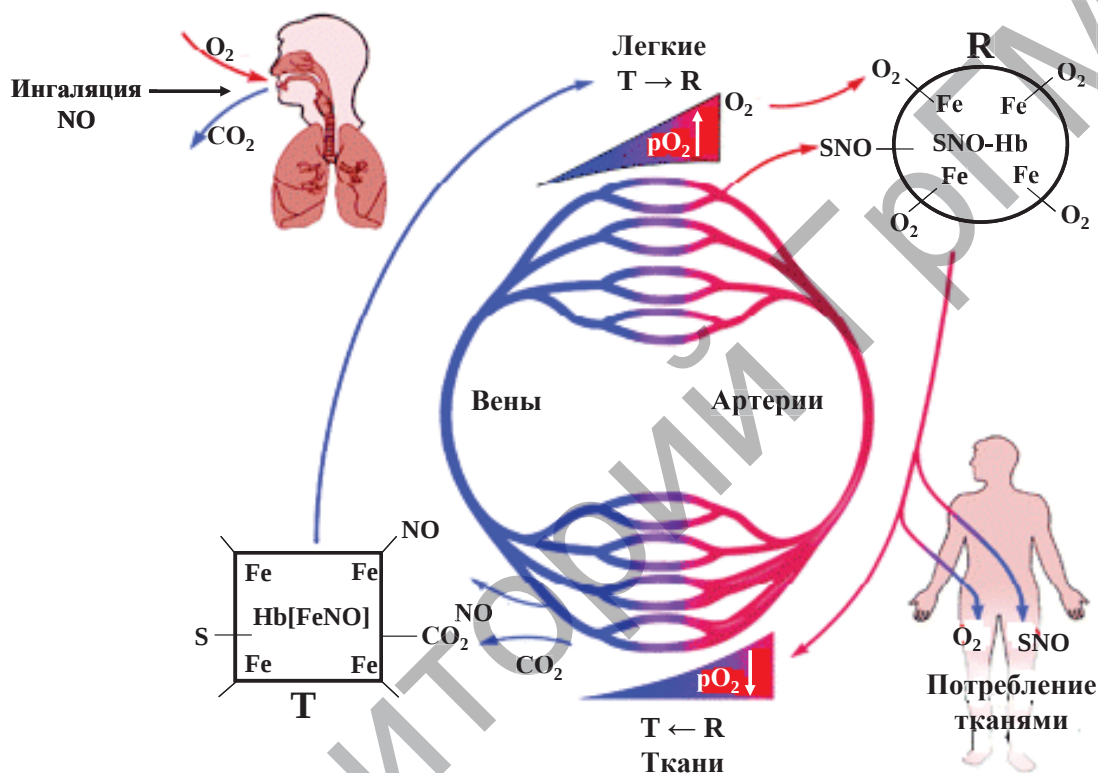


Рисунок 25. – Участие монооксида азота в изменении кислородсвязывающих свойств крови при проведении его ингаляции [McMahon T.J., Doctor A., 2006]

Как известно, поступление O_2 в ткани определяется его содержанием в крови и величиной кровотока. Эритроциты, секвестрируя NO в терминальных артериолах и капиллярах, уменьшают его участие в вазодилатации, и тем самым, казалось бы, противодействуют реализации КТФ крови. Биоактивность NO может экспортироваться из места выработки/доставки NO через циркулирующие эритроциты в периферические ткани, что предполагает сохранение биоактивности NO в стабильных подвижных запасах [Sonveaux P. et al., 2007]. Сосудистая сеть

может скорее действовать не как ловушка для поглощения NO, но как механизм доставки NO [FrehmE. etal., 2004].

Установлен эффект NO на структурные и функциональные свойства эритроцитов: инкубация крови со спермин-NONO-атом снижает ДЭ и $p50$ (в зависимости от концентрации NO, не влияя на активность ПОЛ) [MesquitaR. etal., 2002]. При холодовом воздействии при введении L-аргинина отмечается наименьший сдвиг КДО влево [ZinchukV. V., DorokhinaL. V., 2002]. Высокие дозы нитроглицерина (источника NO) вызывают увеличение образования нитрозилгемоглобина, коррелирующего с ростом значения $p50$ и соответствующим сдвигом КДО вправо [Kosaka H., Seiyama A., 1996].

Продукты метаболизма NO, судя по их химической структуре, видимо, влияют на клеточный метаболизм и транспорт, в том числе на синтез и утилизацию АТФ. NO оказывает эффект на энергетический метаболизм эритроцитов через рост активности гликолитических ферментов, но без изменения содержания АТФ, отражая сокращение времени круговорота АТФ при максимальных дозах используемых доноров и указывая на стимуляцию потребляющих этот макроэрг процессов на уровне эритроцитов [MaleticS.L. etal., 2000]. В этом аспекте важно отметить, что эритроциты через способность высвобождать АТФ в ответ на физиологические стимулы (механическая деформация) могут влиять на синтез и высвобождение NO, регулируя тем самым величину сосудистого сопротивления [OlearczykJ.J. etal., 2004]. Вклад NO в внутриэритроцитарные механизмы регуляции кислород-связывающих свойств крови показан в опытах *invitro*: венозную кровь инкубировали при 37⁰С в анаэробных условиях с донорами NO (нитроглицерином, молсидоминем, нитрозоцистеином и L-аргинином), в крови, смешанной с нитрозоцистеином и подвергавшейся оксигенации, значение $p50_{\text{станд}}$ было ниже на $3,9 \pm 0,70$ мм рт. ст. ($p < 0,05$), а $p50_{\text{реал}}$ на $3,4 \pm 0,95$ мм рт. ст. ($p < 0,05$) и, соответственно, при сдвиге КДО вправо [StepuroT.L., ZinchukV.V, 2006]. В ряде опытов было показано изменение КТФ крови при введении веществ, изменяющих активность

L-аргинин-NO системы. Введение нитроглицерина производило

к увеличению метгемоглобина на 217,1% и $p50$ – на 29,2%, а в условиях введения ЛПС и предварительного повышения СГК эти эффекты донора NO усиливались [Зинчук В.В., 2005]. Обработка крови различными концентрациями NO либо донорами NO (соль Анжели и др.) повышает СГК, линейно коррелирующее с уровнем метгемоглобина, что предполагает вклад последнего в модификации транспорта кислорода кровью [Hrinczenko V.W. et al., 2000]. Приведенные данные предполагают существование механизма формирования кислородсвязывающих свойств крови с участием NO, реализуемого на эритроцитарном уровне.

Влияние NO на модуляцию кислородсвязывающих свойств крови проявляется при его высоких концентрациях в капиллярах, вследствие большей активности эндотелиальной изоформы NO-синтазы в артериолах и относительно малого объема крови, приходящейся на единицу площади в данном участке сосудистой системы [Zinchuk V.V. et al., 2004], а также при избыточной продукции NO за счет экспрессии индуцибельной изоформы NO-синтазы или его повышенного образования при введении тех или иных фармакологических препаратов.

В клинической фармакологии относительно недавно появился новый класс препаратов, которые способны увеличить продукцию NO в организме, одним из которых является небиволол (небилет), новый "атипичный" β -блокатор, относящийся к третьему поколению, обладающий выраженными вазодилатирующими свойствами [Cockcroft J., 2004]. Данный препарат способен улучшать функциональное состояние эндотелия сосудов, находящихся в условиях окислительного стресса, обусловленного гиперлипидемией [Mollnau H. et al., 2003], что связано с его способностью предотвращать расщепление эндотелиальной NO-синтазы и активацию НАД-оксидазы нейтрофилов. Предполагается, что данный препарат вызывает увеличение содержания внутриклеточного Ca^{2+} и потенцирование синтеза NO через рецепторные механизмы [Ignarro L.J., 2004]. Имеются сведения о том, что небиволол, подобно карведилолу, обладает антиоксидантными свойствами [Cockcroft J. 2004]. Антиоксидантная активность его как в цельной крови, так и в изолированных нейтрофилах носит дозозависимый характер, атенолол, метопролол и карведилол в этом отношении обладают значительно меньшей

эффективностью [Mollnau H. et al., 2003]. Двухнедельный прием небилета (у пациентов АГ II ст.) и сочетанный прием его с эналаприлом и гипотиазидом (у пациентов АГ III ст.) увеличивает уровень нитрат/нитритов в плазме крови и эндотелийзависимую вазодилатацию, уменьшает проявления гипоксии [Зинчук В. В. и др., 2006]. Его применение у пациентов с АГ II ст. улучшало кислородное обеспечение, увеличивался pO_2 . Изменения $p50$ в большей степени зависели от исходного уровня. Так, у пациентов с АГ II ст. $p50_{\text{реал}}$ не изменилось, а $p50_{\text{станд}}$ достоверно уменьшилось (на 6,3%; $p < 0,05$). У пациентов с АГ III ст. под влиянием небилета $p50_{\text{реал}}$ увеличилось (на 9,2%; $p < 0,05$), $p50_{\text{станд}}$ – (на 8,3%; $P < 0,05$), т.е. отмечалось нормализующее влияние небилета на SGK. В опытах *invitro* небиволол увеличивал значения $p50$ при реальных значениях pH и pCO_2 на $4,3 \pm 0,8$ ($p < 0,05$) мм рт.ст. при самой низкой концентрации, а последующее 2- и 3-кратное увеличение его концентрации повышало его величину на $7,5 \pm 1,1$ ($p < 0,01$) и $10,6 \pm 0,7$ ($p < 0,01$) мм рт.ст., соответственно, что отражает дозозависимый характер его действия. Уровень метгемоглобина и содержание нитрат/нитритов возрастало при росте концентрации препарата [Зинчук В.В., Зинчук Н.В., 2007]. Очевидно, изменения SGK при действии небиволола реализуется также через автономную внутриэритроцитарную систему регуляции кислородсвязывающих свойств крови. NO в этом случае выступает в качестве важного модификатора функциональных свойств гемоглобина.

КТФ крови может влиять на активность L-аргинин-NO системы. Образование NO – процесс кислородзависимый. Кислород является одним из субстратов, необходимых для синтеза NO и может играть лимитирующую роль для образования NO. Активность NO-синтазы может модифицироваться гипоксией, при pO_2 меньше 30 мм рт.ст., ферментативный синтез NO снижается [Kourembanas S., et al., 1998]. Острая гипоксия дозозависимо угнетает активность всех изоформ NO-синтазы, при умеренной гипоксии поступление в клетки Ca^{2+} активирует NO-синтазу и предупреждает дефицит NO, а при длительной и тяжелой гипоксии этот компенсаторный механизм не работает и дефицит NO приводит к гипоксической вазоконстрикции, что может при-

вести к развитию системной или легочной гипертензии, инфаркту миокарда (ИМ)[Манухина Е.Б., 2008].

Следует учитывать взаимодействие гемоглобина не только с кислородом, но, в особенности, с NO, имеющим гораздо более высокое сродство к гемической группе дезоксигемоглобина, чем кислород и углекислый газ, что позволяет предполагать его конкурентное с кислородом за соответствующие участки частично оксигенированного гемоглобина [Gladwin M.T. et al., 2000]. Дефицит кровотока, нарушение процессов транспорта кислорода в ткани в свою очередь – важные факторы, определяющие образование NO в организме [Zinchuk V.V. et al., 2004]. СГК, регулируя уровень NO, может вносить вклад в равновесие между ним и кислородом в сосудистой сети. С другой стороны, в формировании данных нарушений может участвовать эндотелий, так как только синтезируемый в достаточном количестве NO поддерживает нормальный кровоток и транспорт кислорода к тканям. При ДЭ нарушается образование различных NO-производных гемоглобина, что влияет не только на высвобождение ими NO на разных участках сосудистого русла, но и на СГК, и, соответственно, оптимальное протекание оксигенации крови в капиллярах малого круга и ее деоксигенации в капиллярах большого круга кровообращения. Формирование ДЭ, характеризующееся дисбалансом NO-продуцирующей функции и нарушением деградации NO, ведет к изменению кислородсвязывающих свойств крови, возникновению гипоксии и усилению проявления эндотелиальной дисфункции, формируя порочный круг (рис.26). Повышенное в гипоксических тканях высвобождение NO из нитрозоформ снижает региональное сосудистое сопротивление [Deem S. et al., 2001], что является примером значения аллостерических свойств гемоглобина, которые улучшают транспорт O₂ путём приведения кровотока в соответствие с региональными потребностями в нем.



Рисунок 26. – Участие кислородсвязывающих свойств крови в развитии дисфункции эндотелия [Зинчук В.В., 2003]

При гипоксических состояниях различного генеза в организме имеет место дисбаланс между доставкой кислорода и скоростью, эффективностью его использования в клетках. Среди широкого диапазона адаптационных процессов, проявляющихся на молекулярном, клеточном и системном уровнях физиологической организации, изменение структурно-физиологических глобинов может критическим образом управлять выживанием при специфических условиях среды и физиологических потребностей [Weber R.E., Fago A., 2004]. Гипоксия индуцирует экспрессию ряда генов, отвечающих за образование фактора роста эндотелия, эритропоэтина, эндотелина, которые в свою очередь обеспечивают усиление процессов васкуляризации, образование эритроцитов, вазоконстрикцию, и в конечном итоге направлено на поддержание кислородного гомеостаза. Анализ приспособительных изменений кислородсвязывающих свойств крови при ДЭ и гипоксиях следует рассматривать именно в аспекте функциональных отношений системы транспорта кислорода и L-аргинин-NO системы. В формировании нарушений КТФ крови при этом может участвовать эндотелий, так как только синтезируемый в адекватном количестве NO поддерживает нормальный кровоток и

транспорт кислорода к тканям, что является мишенью для терапии.

2.3 Особенности кислородтранспортной функции крови у пациентов с артериальной гипертензией в условиях комплексной патогенетической терапии

Было изучено влияние комплексной патогенетической терапии, включающей эналаприл, атенолол и гипотиазид, а также эффективность применения β -адреноблокатора 3-го поколения небилета (небиволол) на показатели КТФ крови у пациентов с артериальной гипертензией (АГ). Согласно нашим данным, изучение показателей КТФ крови у этих пациентов выявило, что на ее ранних стадиях (I степень) они не отличаются от найденных у здоровых лиц. По мере прогрессирования АГ наблюдалось увеличение СГК, сдвиг КДО влево, повышение $p\text{CO}_2$, снижение $p\text{O}_2$ [Zinchuk V. et al., 2004]. Эти изменения были более выражены у пациентов с низким содержанием нитрат/нитритов, сниженной эндотелийзависимой вазодилатацией, а также у лиц, принимавших гипотензивную терапию эпизодически. Напротив, у пациентов с более высоким содержанием нитрат/нитритов в плазме крови, сохраненной функцией эндотелия наблюдались более высокие показатели $p50$, сдвиг КДО вправо (рис.27), что следует рассценивать как положительную, компенсаторную реакцию на гипоксию.

Наблюдалась умеренная корреляционная связь между $p\text{O}_2$ и уровнем нитрат/нитритов ($r=0,489$; $p<0,01$), а также между $p\text{O}_2$ и величиной прироста ПК на реактивную гиперемию ($r=0,380$; $p<0,05$). Выявлена положительная умеренная корреляция показателя $p50$ с уровнем нитрат/нитритов в плазме крови ($r=0,435$; $p<0,01$), что свидетельствует о том, что при ДЭ у пациентов с АГ наблюдаются существенные нарушения КТФ крови.

Как видно из таблицы 16, после проведенного лечения у пациентов с АГ II степени $p50_{\text{реал}}$ не изменилось, а $p50_{\text{станд}}$ уменьшилось (на 5,8%; $p<0,01$), его значение составило $26,92 \pm 0,45$ мм рт. ст., что не отличалось от такового у здоровых лиц. Нормализация СГК была более выражена при более значительном увеличении уровня нитрат/нитритов. У пациентов с АГ II степени после лечения $p\text{O}_2$ повысилось на 2,64 мм рт.ст. ($p<0,05$), составив

по группе $33,65 \pm 0,71$ мм рт. ст., что не отличалось от такового у здоровых лиц. Уровень $p\text{CO}_2$ не изменился по сравнению с исходными данными до лечения и составил $52,91 \pm 1,59$ мм рт. ст.

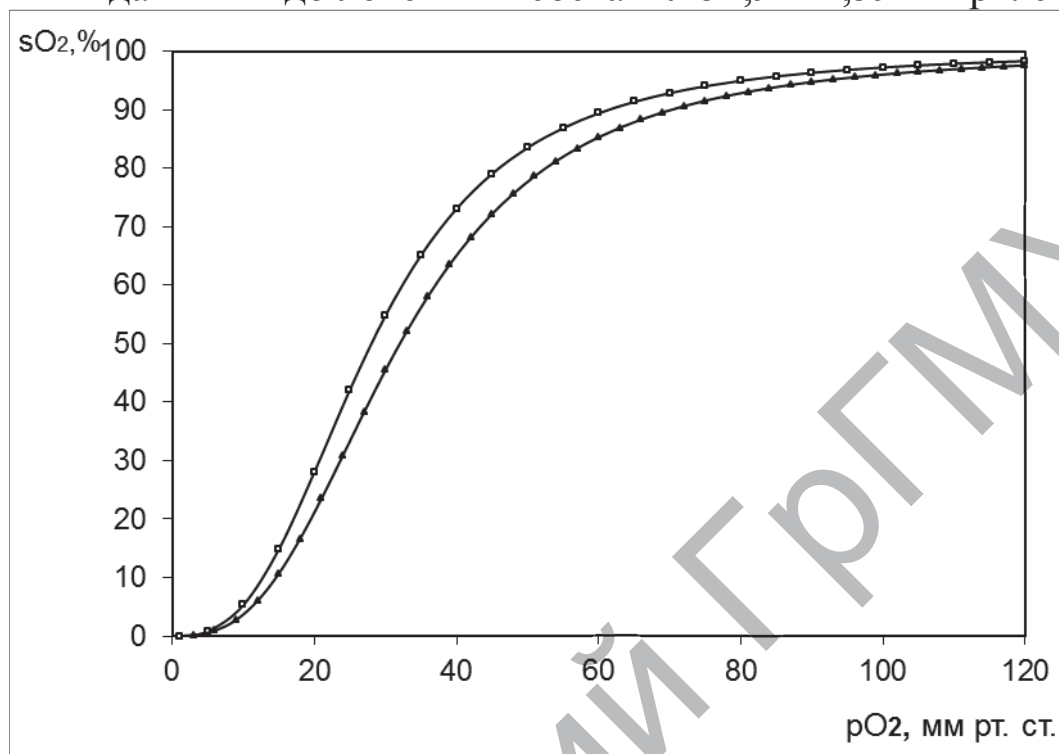


Рисунок 27. – Кривые диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях $p\text{H}$, $p\text{CO}_2$: (□) - здоровые, (▲) – пациенты с АГ II степени с более высоким содержанием нитрат/нитритов

При АГ III степени проведенное лечение приводило к понижению СГК. Так, $p50_{\text{реал}}$ увеличилось на 6% ($p < 0,05$) и составило $28,79 \pm 0,42$ мм рт. ст., а $p50_{\text{станд}}$ увеличилось на 6,6% ($p < 0,01$), равнялось $26,73 \pm 0,33$ мм рт. ст. Уменьшение СГК, вероятно, способствовало улучшению отдачи кислорода тканям, так как при этом существенно уменьшилось $p\text{CO}_2$ (на 3,86 мм рт. ст.; $p < 0,05$). $p\text{O}_2$ изменилось незначительно, его значение составило $31,94 \pm 1,50$ мм рт.ст. ($p > 0,1$). Значение $p\text{H}$ крови достоверно не изменилось, его величина после лечения составила $7,32 \pm 0,01$ ед. У пациентов с АГ III степени, протекающей в сочетании с ИБС, проведенное лечение также приводило к достоверному понижению СГК. Так, $p50_{\text{реал}}$ у них увеличилось на 7,4% ($p < 0,05$) и его значение составило $29,84 \pm 0,62$ мм рт.ст., а $p50_{\text{станд}}$ увеличилось на 7,3% ($p < 0,01$) и в целом по группе составило $26,88 \pm 0,41$ мм рт.ст. Уменьшение СГК, вероятно, способствовало улучшению оксигенации тканей, однако вследствие повышенной потребности

организма в кислороде остальные параметры КТФ крови существенно не изменились. Так, pO_2 у 4 человек уменьшилось, у 5 – не изменилось, у остальных увеличилось, а в целом по группе составило $31,83 \pm 1,39$ мм рт.ст.

Таким образом, проведенное лечение во всех наблюдавшихся группах оказывало нормализующее влияние на SGK. Однако на фоне сохраняющейся дисфункции эндотелия, сниженного уровня синтеза NO, существенного улучшения оксигенации тканей, особенно при АГ III степени, не наступило. Так, при АГ III степени и в сочетании с ИБС сохранялись низкие значения pO_2 , высокое pCO_2 , низкие значения pH крови, что свидетельствует о несоответствии потребности миокарда в кислороде и его обеспечении. Следовательно, применение эналаприла, атенолола и гипотиазид на фоне сохраняющейся дисфункции эндотелия не полностью компенсировало кислородную недостаточность при АГ.

Таблица 16.– Показатели функции эндотелия, кислородтранспортной функции крови у пациентов с артериальной гипертензией после двухнедельного курса лечения ($M \pm m$)

Показатель		Эналаприл, атенолол, гипотиазид			Небилет	
		АГ II ст.	АГ III ст.	АГ+ИБС	АГ II ст.	АГ III ст.
Нитрат/ нитриты, мкМ/л	Исходно после лечения	$16,29 \pm 0,65$	$13,04 \pm 0,92$	$12,43 \pm 0,52$	$16,80 \pm 0,95$	$13,81 \pm 0,97$
		$18,56 \pm 0,78$ $p < 0,05$	$14,62 \pm 0,93$	$13,96 \pm 0,68$	$23,41 \pm 1,21$ $p < 0,05$	$19,14 \pm 1,20$ $p < 0,05$
Эндотелий- зависимая вазодилата- ция, %	Исходно после лечения	$15,90 \pm 1,78$	$9,30 \pm 1,76$	$8,90 \pm 0,78$	$16,80 \pm 2,57$	$9,70 \pm 1,71$
		$18,50 \pm 1,78$	$12,90 \pm 1,92$	$11,8 \pm 1,55$	$29,01 \pm 2,90$ $p < 0,05$	$18,94 \pm 2,32$ $p < 0,01$
$p50_{\text{реаль}}$ мм рт.ст.	Исходно после лечения	$30,17 \pm 0,74$	$27,16 \pm 0,53$	$27,78 \pm 0,40$	$31,26 \pm 1,03$	$26,99 \pm 0,74$
		$28,93 \pm 0,39$	$28,79 \pm 0,42$ $p < 0,05$	$29,84 \pm 0,62$ $p < 0,05$	$30,04 \pm 0,47$	$29,48 \pm 0,85$ $p < 0,05$
$p50_{\text{станд}}$ мм рт.ст.	Исходно после лечения	$28,58 \pm 0,37$	$25,06 \pm 0,23$	$25,05 \pm 0,20$	$28,54 \pm 0,39$	$25,15 \pm 0,36$
		$26,92 \pm 0,45$ $p < 0,01$	$26,73 \pm 0,33$ $p < 0,01$	$26,88 \pm 0,41$ $p < 0,01$	$26,74 \pm 0,36$ $p < 0,05$	$27,25 \pm 0,60$ $p < 0,05$
pO_2 , мм рт.ст.	Исходно после лечения	$31,01 \pm 0,81$	$30,09 \pm 0,71$	$29,63 \pm 1,57$	$31,01 \pm 0,81$	$30,36 \pm 0,71$
		$33,65 \pm 0,71$ $p < 0,05$	$31,94 \pm 1,50$	$31,83 \pm 1,39$	$35,16 \pm 1,36$ $p < 0,05$	$32,16 \pm 0,86$
pCO_2 , мм рт.ст.	Исходно после лечения	$55,38 \pm 1,53$	$56,30 \pm 1,05$	$57,22 \pm 1,28$	$55,27 \pm 1,68$	$57,81 \pm 1,88$
		$52,91 \pm 1,59$	$52,44 \pm 1,05$ $p < 0,05$	$53,57 \pm 1,24$	$50,75 \pm 1,15$ $p < 0,05$	$51,93 \pm 1,64$ $p < 0,05$

Примечание: p – различия после лечения по сравнению с исходными величинами

После проведенного лечения небилетом у пациентов с АГ II степени $p50_{\text{реал}}$ не изменилось, а $p50_{\text{станд}}$ уменьшилось (на 6,3%; $p < 0,05$). Его значение составило $26,74 \pm 0,36$ мм рт. ст., что практически не отличалось от такового у здоровых лиц, т.е. отмечено нормализующее влияние небилета на СГК. Наряду с этим pO_2 повысилось на 4,49 мм рт.ст. ($p < 0,05$) по сравнению с исходным уровнем до лечения, и в результате его значение после лечения практически не отличалось от такового у здоровых лиц. Уровень pCO_2 после лечения уменьшился на 4,52 мм рт. ст. ($p < 0,05$) по сравнению с исходным и составил $50,75 \pm 1,15$ мм рт. ст., что не отличалось от такового у здоровых лиц.

У пациентов с АГ III степени после лечения небилетом достоверно увеличилось $p50_{\text{реал}}$ (на 9,2%; $p < 0,05$), и $p50_{\text{станд}}$ – (на 8,3%; $p < 0,05$). Так, в результате лечения уменьшилось pCO_2 на 5,88 мм рт. ст. ($p < 0,05$), его значение составило $51,93 \pm 1,64$ мм рт. ст. Однако pO_2 изменилось незначительно, его значение составило $32,16 \pm 0,86$ мм рт. ст.

Таким образом, применение небилета уменьшало проявления гипоксии при АГ II степени, после лечения увеличивалось pO_2 , нормализовалось $p50_{\text{реал}}$ и $p50_{\text{станд}}$, уменьшилось pCO_2 . При АГ III степени под влиянием небилета уменьшались проявления гипоксии, увеличивалось $p50_{\text{реал}}$ и $p50_{\text{станд}}$, уменьшалось pCO_2 . Изменения $p50$ не столько зависели от стадии заболевания, сколько от его исходного уровня. У пациентов, у которых $p50$ исходно было высоким, после лечения происходило его снижение, а с исходно низким $p50$ – его увеличение.

Положительное влияние небилета на КТФ крови можно объяснить увеличением синтеза NO, который может изменять СГК. В свою очередь КТФ крови может влиять на активность L-аргинин-NO системы. Использование фармакологических веществ, способных направленно изменять образование NO и СГК, может быть использовано в качестве эффективного средства коррекции развития ДЭ.

2.4 Кислородтранспортная функция крови у пациентов с стенокардией в условиях патогенетической терапии

Проведение комплексной патогенетической терапии у пациентов со стенокардией изменяло КТФ крови: в группе стабильной стенокардии напряжения (ССН) ФК I – атенолол в дозе 50-75 мг в сутки и аспирин по 125 мг в сутки; в группе ССН ФК II – атенолол, аспирин и молсидомин 2-4 мг 2-3 раза в день; у пациентов со ССН ФК I, II и III, протекавшей в сочетании с АГ II степени – атенолол, аспирин, молсидомин в тех же дозах и эналаприл по 5-20 мг/сутки. В группе с ССН ФК II, протекавшей в сочетании с АГ II степени – аспирин, молсидомин, эналаприл назначался с бетаксололом в дозе 10 мг в сутки, а 10 пациентам со ССН ФК II, протекавшей в сочетании с АГ II степени, дополнительно к комплексной медикаментозной терапии, назначали атенолол, аспирин, молсидомин и эналаприл.

Из таблицы 17 видно, что изменения pO_2 и pCO_2 носили однонаправленный характер: pO_2 было сниженным по сравнению со здоровыми лицами и не различалось между группами, а pCO_2 – повышенным во всех группах и также не различалось между собой. Наиболее низкие значения pO_2 (23,0 – 24,9 мм рт.ст.) и наиболее высокие pCO_2 (58,6-60,1 мм рт.ст.) наблюдались у пациентов, ранее не лечившихся, а также в случаях сопутствующей длительной АГ.

Основной показатель кислотно-основного равновесия – pH крови – был снижен во всех группах обследуемых по сравнению со здоровыми лицами и был наименьшим при ССН ФК III, протекавшей с АГ II степени, что указывает на расстройство компенсации метаболических сдвигов с увеличением ФК стенокардии и наличием АГ. При этом наиболее низкие значения pH крови были у лиц, длительно (более 5 лет) страдавших ИБС, перенесших ранее ИМ. Возникновение ацидоза позволяет независимо от гемодинамических изменений увеличивать количество экстрагируемого тканями кислорода до 18%.

СГК при ССН ФК, протекавшей как с сопутствующей АГ, так и без неё, повышалось ($p50_{\text{реал/станд}}$ у пациентов с ФК I – $27,2 \pm 0,4 / 24,4 \pm 0,3$ мм рт. ст., при ФК I, сопутствующей АГ I степени – $27,4 \pm 0,5 / 25,2 \pm 0,4$ мм рт. ст.). У лиц со ССН ФК II СГК

также повышалось, но при сочетании её с АГ II степени сдвига КДО, по сравнению с контрольной группой, не происходило. При ССН ФК III, протекавшей с АГ II степени, также не было различий в $p50$ как истинного, так и стандартного, в сравнении с контрольной группой лиц, но имелся сдвиг КДО вправо. При корреляционном анализе показателей КТФ крови и функции эндотелия установлена умеренная положительная связь между параметрами $p50_{\text{реал/станд}}$ и эндотелийзависимой вазодилатации (в группе ФК I, протекающей с АГ II степени – $r=0,63$, $p<0,05$; в группе ФК II, протекающей с АГ II степени – $r=0,34$, $p<0,05$). При ССН ФК I найдена умеренная положительная корреляция между концентрацией нитратов/нитритов и pO_2 ($r=0,53$; $p<0,05$). Установлена умеренная положительная корреляция между эндотелийзависимой вазодилатацией и pCO_2 (в группе с ССН ФК I $r=0,64$, $p<0,05$ и ФК II, протекающей с АГ II степени – $r=0,31$, $p<0,05$), а между эндотелийзависимой вазодилатацией и pH крови – умеренная отрицательная корреляция ($r=-0,33$, $p<0,05$).

Таблица 17. – Влияние патогенетической терапии на показатели КТФ крови и функции эндотелия у пациентов с ИБС: ССН ФК I, ФК II и ФК III с АГ II степени ($M \pm m$)

Показатели		ФК I + АГ II	ФК II + АГ II	ФК III + АГ II
n		19	16	13
$p50_{\text{реал}}$, мм рт.ст.	до лечения	27,1 $\pm$ 0,5*	27,7 $\pm$ 0,4	29,7 $\pm$ 0,7
	после лечения	29,4 $\pm$ 0,5 [#]	29,1 $\pm$ 0,5 [#]	29,0 $\pm$ 0,6
$p50_{\text{станд}}$, мм рт.ст.	до лечения	25,0 $\pm$ 0,4*	25,9 $\pm$ 0,4	27,1 $\pm$ 0,7
	после лечения	26,8 $\pm$ 0,4 [#]	26,6 $\pm$ 0,4 [#]	26,2 $\pm$ 0,5
pO_2 , мм рт.ст.	до лечения	28,3 $\pm$ 1,5*	30,3 $\pm$ 1,5*	28,4 $\pm$ 1,0*
	после лечения	31,7 $\pm$ 1,2* [#]	29,9 $\pm$ 1,1*	30,0 $\pm$ 1,3*
pCO_2 , мм рт.ст.	до лечения	53,5 $\pm$ 1,2	53,2 $\pm$ 1,0	55,1 $\pm$ 1,5*
	после лечения	52,8 $\pm$ 0,8	53,4 $\pm$ 1,3	53,7 $\pm$ 1,2
pH, ед.	до лечения	7,323 $\pm$ 0,014	7,314 $\pm$ 0,010*	7,299 $\pm$ 0,009*
	после лечения	7,320 $\pm$ 0,009*	7,319 $\pm$ 0,008*	7,314 $\pm$ 0,012*
Нитрат/нитриты мкмоль/л	до лечения	17,69 $\pm$ 1,16*	16,84 $\pm$ 1,17*	11,03 $\pm$ 0,91*
	после лечения	22,03 $\pm$ 1,87 [#]	20,55 $\pm$ 1,42*	15,52 $\pm$ 0,99* [#]
Эндотелий-зависимая вазодилатация, %	до лечения	12,87 $\pm$ 1,56*	8,52 $\pm$ 1,50*	2,14 $\pm$ 1,74*
	после лечения	22,85 $\pm$ 2,08* [#]	14,04 $\pm$ 1,23* [#]	7,77 $\pm$ 2,09*

Примечание: * – достоверные различия по сравнению со здоровыми лицами;
[#] – различия после лечения по сравнению с показателем до лечения $p<0,05$, $p<0,001$

Наряду с такими механизмами компенсации гипоксии миокарда, как изменение СГК, имеет значение взаимосвязь с выработкой эндотелием NO, приводящего к расширению сосудов, в том числе коронарных, в ответ на действие разных стимулов.

Значения $p50_{\text{реал/станд}}$ у пациентов с СН ФК I увеличились и составили $29,2 \pm 0,5 / 26,1 \pm 0,3$ мм рт. ст., у пациентов с ФК II – $28,9 \pm 0,7 / 26,5 \pm 0,6$ мм рт. ст. и не отличались от аналогичных показателей у здоровых лиц (табл.17). Значения pO_2 остались сниженными по сравнению с таковыми в контрольной группе у пациентов с ФК I на 15,5% ($p < 0,001$), ФК II – на 10,0% ($p < 0,05$), а pCO_2 – повышенными на 8,4% ($p < 0,05$) в группе ФК I и не отличалось от таковых в контрольной группе у пациентов с ФК II. Терапия атенололом и аспирином была особенно эффективна у пациентов, ранее не леченных, с исходными значениями $p50_{\text{реал}}$ менее 26,0 мм рт.ст. и pO_2 – 23,9-24,9 мм рт. ст. Ещё более эффективное влияние на показатели КТФ крови оказал сочетанный прием атенолола и аспирина с молсидомином. При этом содержание нитратов/нитритов после лечения при СН ФК I увеличилось до уровня контрольной группы лиц, но при СН ФК II осталось ниже на 20,9% ($p < 0,05$). Максимальное увеличение их содержания было при исходном уровне 14-16 мкмоль/л.

У пациентов с СН ФК II, протекавшей с АГ II степени, значения pO_2 остались ниже ($p < 0,001$), чем в контрольной группе, но в 6 случаях (38%) не отличались от аналогичных у здоровых лиц. Значения pCO_2 не изменились. Показатель pH крови остался ниже ($p < 0,05$), чем в группе здоровых лиц. Значения $p50_{\text{реал/станд}}$ увеличились ($p < 0,05$; $p < 0,05$) до уровня контрольной группы.

Таким образом, в данной группе проведенная вышеуказанная терапия привела к нормализации СГК, однако признаки гипоксии, метаболического ацидоза сохранялись. У пациентов со СН ФК III, протекавшей в сочетании с АГ II степени, значения pO_2 остались на 16,9% ниже ($p < 0,001$), чем в контрольной группе, а pCO_2 от неё не отличались. Показатель pH крови остался ниже ($p < 0,05$), чем в группе у здоровых лиц, а СГК в целом по группе не изменилось.

Таким образом, показатели КТФ крови после проведенного лечения изменялись однонаправленно во всех группах, независи-

мо от исходного уровня, поэтому их коррекцию следует проводить с учетом исходных значений.

У пациентов с ССН ФК II (12 человек), протекавшей с АГ II степени, принимавших помимо эналаприла, аспирина, молсидомина и бетаксолола показатели КТФ крови не отличались от аналогичных в группе пациентов при терапии эналаприлом, аспирином, молсидомином и атенололом. В исследуемой группе повысилась выработка NO эндотелием, значительно улучшилась вазомоторная функция сосудов, но эндотелийзависимая вазодилатация не достигла уровня здоровых лиц. Терапия с применением бетаксолола в дозе 10 мг в сутки более эффективно улучшала функцию эндотелия и стимулировала выработку NO, чем терапия с использованием атенолола. Эффективность лечения была менее значительна у лиц, страдавших АГ более 5 лет, у перенесших ИМ и у пациентов старше 60 лет.

Включение в комплексное медикаментозное лечение ССН ФК II, протекавшей с АГ II степени (10 человек) дозированных ФН оказало более выраженный эффект на исследуемые показатели КТФ крови, чем только лекарственная терапия. После лечения pO_2 увеличилось на 17,7% ($p < 0,001$), что было на 13,4% ($p < 0,05$) выше, чем в аналогичной группе без велотренировок, и наибольшим среди всех исследуемых групп. Напряжение CO_2 составило $51,0 \pm 0,9$ мм рт. ст. и не отличалось от контрольных цифр. Исходно сниженная величина pH крови увеличилась до $7,330 \pm 0,009$ ед. и так же не отличалась от здоровых лиц. После лечения $p50_{\text{реал}}$ увеличилось на 3,1% ($p < 0,05$), а $p50_{\text{станд}}$ не отличалось от практически здоровых лиц. Продукция NO эндотелием повысилась на 31,7%.

Таким образом, вышеуказанная комплексная дифференцированная патогенетическая терапия ССН, в т.ч. протекавшей с АГ, наряду с положительным клиническим эффектом значительно улучшала показатели КТФ крови и эндотелиальную функцию, но была недостаточной, особенно у пациентов с ССН ФК III.

2.5 Влияние патогенетической терапии на механизмы транспорта кислорода у пациентов с инфарктом миокарда при метаболическом синдроме, сахарном диабете 2-го типа

Метаболические нарушения обуславливают чрезвычайно высокий риск развития ИБС и других заболеваний, связанных с

атеросклерозом, в связи с чем актуально выявление факторов агрессии, влияющих на течение кардио-васкулярной патологии, поиск неинвазивных способов ее ранней диагностики и коррекции [Митьковская Н.П. и др., 2008; Rice V.H. et al., 2011].

У пациентов с ИМ (на 25-е сутки) [Глуткина Н.В., Пырочкин В.М., 2012]. Функциональное состояние эндотелия плечевой артерии характеризуется при проведении пробы с реактивной гиперемией снижением кровотока $(-2,5 (-8,4; 10) \%)$ и уровня нитрат/нитритов в плазме крови $(9,94 (8,76; 10,77) \text{ мкмоль/л})$ по отношению к здоровым и обследуемым лицам, страдающих ИБС: стабильной стенокардией напряжения, ФК II, что отражает развитие ДЭ. К концу 60-х суток у данных пациентов наблюдается увеличение прироста кровотока и концентрации нитрат/нитритов в плазме крови, свидетельствуя об улучшении вазомоторной функции. Как известно, в ответ на гипоксический стимул развивается компенсаторное увеличение кровотока, направленное на поддержание достаточного количества доставки кислорода на периферию, а в условиях более выраженной артериальной гипоксемии и меньшего прироста кровотока это возможно лишь за счет более полного извлечения кислорода из крови на периферии и увеличения ее артерио-венозной разности по кислороду [Коркушко О.В. и др., 2011]. Состояние кислородтранспортной функции крови у пациентов с ИМ (табл. 18) отражает развитие признаков гипоксии на 25-е сутки от начала заболевания и уменьшение их на 60-е сутки. У данных пациентов на 25-е сутки отмечается сдвиг КДО вправо, а к концу исследуемого периода она сдвигается влево, что, очевидно, связано с улучшением резервных возможностей гемодинамического компонента системы транспорта кислорода [Глуткина Н.В., 2013а].

Активация определенных путей метаболизма в эндотелиальной клетке под действием гипоксии приводит к неадекватному образованию ряда биологически активных веществ, что в свою очередь влияет на клетки крови, изменяя их разные свойства [Замечник Т.В., Рогова Л.Н., 2012]. При ИМ имеет место нарушение образования NO, а именно: дисбаланс его генерации, обусловленный снижением активности эндотелиальной NO-синтазы и повышением экспрессии ее индуцибельной изоформы. Образующийся NO активирует ряд защитных механизмов, обес-

печивающих защитные эффекты за счет индукции антиоксидантных ферментов, белков теплового шока, предупреждения Ca^{2+} – перегрузки клеток, прямого вазодилаторного действия и стимулирования ангиогенеза [Кравченко Н.А., Ярмыш Н.В., 2008]. Кроме того, синтезируемый в достаточном количестве NO поддерживает нормальный кровоток и транспорт кислорода к тканям. В организме вызванное донорами NO улучшение функции эритроцитов способствует усилению микроциркуляции крови и кровоснабжению тканей [Люсов В.А. и др., 2012].

Таблица 18. – Изменение показателей кислородтранспортной функции крови у пациентов с ИМ в сочетании с МС

Группы Параметры	Здоровые лица	ИБС: ста- бильная стенокар- дия на- пряжения ФК II	С инфарктом миокарда через:		С инфарктом миокарда с СД 2-го типа через:		С инфарктом миокарда с МС через:	
			25 суток	60 суток	25 суток	60 су- ток	25 суток	60 суток
n	15	19	25	25	27	27	25	25
$p50_{\text{реал}}$, мм рт.ст.	28,2 (27,9; 29,1)	27,9 (27,0; 29,3)	29,20 (27,8; 29,8)	26,20 (25,0; 28,4)	29,3 (28,2; 31,2)	30,0 (28,6; 30,3)	30,3 (29,1; 30,6) *# α	30,5 (27,6; 30,6) # α
$p50_{\text{станд}}$, ммрт.ст.	27,9 (27,5; 28,9)	28,5 (26,8; 31,0)	28,4 (27,2; 29,5)	26,9 (25,7; 28,1)	28,8 (27,7; 31,0)	29,4 (28,9; 29,7)	30,3 (29,6; 32,5) *# @ α ψ ♦	30,3 (29,0; 32,8) *# α ψ
pH, ед.	7,367 (7,352; 7,407)	7,380(7,36 4; 7,428)	7,392 (7,345; 7,424)	7,383 (7,383; 7,445)	7,384 (7,363; 7,407)	7,382 (7,363; 7,392)	7,384 (7,365; 7,4020) α	7,397 (7,386; 7,427) *# ψ ♦ §
$p\text{CO}_2$, ммрт.ст.	48,5 (46,7; 49,8)	43,8 (41,3; 46,1)	47,1 (41,6; 53,8)	46,0 (42,6; 50,2)	47,0 (43,4; 47,8)	50,1 (45,5; 50,9)	47,2 (43,8; 47,5) *# ♦	42,4 (37,3; 47,4) *# α ψ ♦ §
$p\text{O}_2$, ммрт.ст.	40,0 (38,0; 47,0)	42,0 (39,0; 44,0)	33,0 (30,0; 36,0)	38,0 (37,0; 39,0)	33,0 (30,0; 37,0)	37,0 (33,0; 41,0)	35,0 (31,0;38,0) *# α	38,0 (37,0;38,0) *# ψ §
SO_2 , %	65,4 (60,6; 67,8)	71,3 (65,7; 74,9)	60,2 (55,0; 61,6)	62,20 (58,5; 68,1)	56,7 (53,9; 59,2)	58,2 (55,4; 66,0)	57,8 (50,0; 59,8) *# @ α	62,0 (61,8; 62,7) *# ψ §

Примечание: изменения статистически значимы (критерий Манна-Уитни) по отношению к здоровым лицам – *; к пациентам с ИБС: стабильной стенокардией напряжения; ФК II – #; к пациентам с ИМ на 25-е сутки – @; к пациентам с ИМ на 60-е сутки – α; к пациентам с ИМ в сочетании с СД 2-го типа на 25-е сутки – ψ, к пациентам с ИМ в сочетании с СД 2-го типа на 60-е сутки – ♦; изменения статистически значимы (критерий Вилкоксона) у пациентов с ИМ в сочетании с МС между 25-ми и 60-ми сутками – §

Механизмы транспорта кислорода кровью, в частности СГК, на микроциркуляторном уровне определяют процессы оксигенации тканей [McMahon T.J. et al., 2002]. Установлено, что гликолизация вызывает структурные и функциональные изменения гемоглобина, что обуславливает увеличение СГК [Митянина В.А. и др., 2012]. Увеличение гликолизированного гемоглобина (7% и выше) в крови у пациентов с СД 2-го типа сопровождается изменением оксигенации артериальной крови. Содержание оксигемоглобина значимо увеличивается при наличии СД, однако при этом существенно падает способность гемоглобина связывать кислород, а его свойство отдавать кислород не меняется, свидетельствуя о том, что ведущую роль в изменении кислородсвязывающих свойств крови может играть микроциркуляция [Митянина В.А. и др., 2012]. При гипергликемии в результате экспрессии молекул клеточной адгезии на поверхности эндотелиоцитов происходит скопление активированных клеток белой крови, продуцирующих свободные радикалы, что вызывает нарушение микроциркуляции и может стать причиной расширения зоны некроза у пациентов с ИМ [Кремнева Л.В., Шалаев С.В., 2009].

NO вовлечен как в нормальную регуляцию, так и во многие патофизиологические процессы, поэтому для функционирования регуляторных и защитных его функций необходимо ограничивать гиперпродукцию либо компенсировать его дефицит в организме [Ивашкин В.Т., Драпкина О.М., 2013]. Дефект синтеза NO в эндотелиальных клетках приводит к утрате адекватной регуляции сосудистого тонуса, обуславливая снижение кислородного обеспечения у пациентов с ИБС: стабильной стенокардией напряжения, ФК II. Как свидетельствуют результаты проведенных нами исследований, у пациентов с ИМ наблюдается к концу 60-х суток уменьшение проявлений ДЭ по сравнению с 25-ми сутками. Восстановление NO-образующей функции эндотелия, судя по улучшению показателей его вазомоторной функции и росту уровня нитрат/нитритов, отражает адекватность проводимой терапии, направленной на коррекцию ДЭ через непосредственное воздействие на L-аргинин-NO систему. NO может быть дополнительным эффективным механизмом регуляции и кислородсвязывающих свойств крови.

В клинической практике существует относительно ограниченное число препаратов с доказанным положительным влиянием на метаболизм миокарда в условиях ишемии, а существующий подход с назначением средств гемодинамического действия не всегда может обеспечить оптимальный результат при лечении заболеваний кровообращения, поэтому поиск новых средств, влияющих на метаболизм кардиомиоцита, должен быть одним из приоритетных направлений современной медицины [Олесова В.М. и др., 2013]. В лечении сердечно-сосудистой патологии важное значение отводится антиоксидантным препаратам. Применение ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента зотеноприла и каптоприла в составе комплексной терапии способствует уменьшению оксидативного стресса путем увеличения активности антиоксидантных ферментов, что приводит к снижению активности ПОЛ, уменьшению выраженности ДЭ [Задонченко В.С. и др., 2009].

Было изучено влияние небиволола на кислородтранспортную функцию крови путем инкубации ее образцов с этим препаратом [Зинчук В.В. Зинчук Н.В., 2007]. Небиволол увеличивал значения p_{50} при реальных значениях pH и pCO_2 на 9,1 ($p < 0,05$) % при самой низкой концентрации, что отражает дозозависимый характер его действия и сдвиг КДО вправо (рис.28).

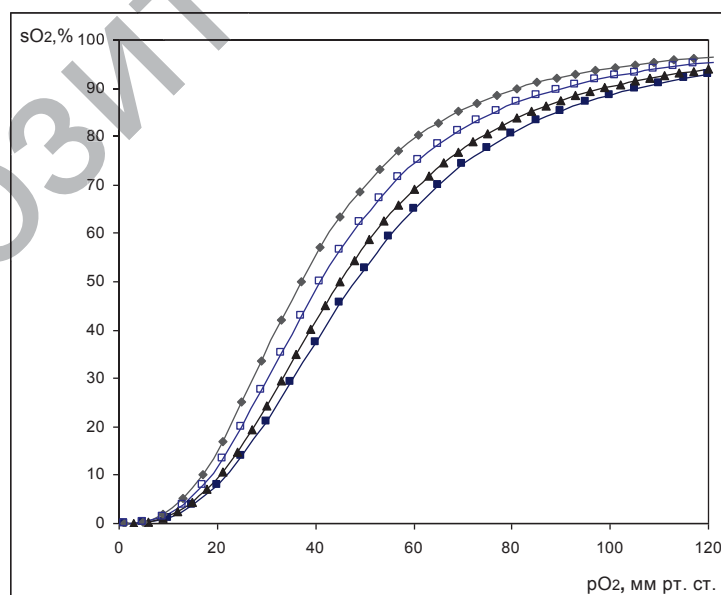


Рисунок 28. – Кривые диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH , pCO_2 и температуры при инкубации с небивололом в дозе 30 (□), 60 (▲), 90 (■) мкмоль/л, контроль –(♦)

Последующее 2- и 3-кратное увеличение его концентрации повышает его величину, а также и концентрацию нитрат/нитритов в плазме крови. Существует тесная взаимосвязь мембранной организации клетки, ее метаболизма, физико-химических параметров внутренней среды и кислородсвязывающих свойств гемоглобина, отражающих, таким образом, интегративную деятельность клеток красной крови при действии на них всей совокупности вне- и внутриэритроцитарных факторов. Предполагается, что данный препарат вызывает увеличение содержания внутриклеточного Ca^{2+} и потенцирование синтеза NO через нерецепторные механизмы [Ignarro L.J., 2004]. Имеются сведения о том, что небиволол, подобно карведилолу, обладает антиоксидантными свойствами и приводит к стабилизации NO [Toblli J.E. et al., 2012; Riva N., Lip G.Y., 2011]. Антиоксидантная активность небиволола как в цельной крови, так и в изолированных нейтрофилах носит дозозависимый характер, а такие препараты, как атенолол, метопролол и карведилол, в этом отношении обладают значительно меньшей эффективностью [Mollnau H. et al., 2003].

Представляет также интерес другая группа препаратов статинов, оказывающая влияние на экспрессию ферментов и интермедиаторов, обеспечивающих равновесие про- и антиоксидантных составляющих, модулируя активность NO-синтазы за счет уменьшения генерации свободных радикалов и восстановления биоактивности NO и проявляя более мощное антиоксидантное действие в ряде случаев, чем непосредственно антиоксиданты [Дриницина С.В., Затейщиков Д.А., 2005]. Симвастатин способен улучшать функциональное состояние эндотелия сосудов, находящихся в условиях окислительного стресса при гиперлипидемии [Якусевич В.В. и др., 2002]. Эффективность статинов связывают не только с подавлением синтеза холестерина, но и с плеiotропными эффектами – уменьшением выраженности ДЭ, снижением синтеза фибриногена, влиянием на процессы тромбообразования, выраженностью воспаления [Абрашкина Е.Д. и др., 2010]. Лечение симвастатином приводит к улучшению нарушенной функции эндотелия (после 2-4 недель применения) [Сусеков А.В. и др., 2010]. У пациентов с АГ симвастатин снижает уровень МДА и повышает образование С-реактивного белка в плазме [Аб-

del-Zaher A.O. et al., 2011]. Исследован эффект симвастатина на кислородтранспортную функцию крови при инкубации [Глуткина Н.В., 2013б]. Данный препарат уменьшает значения $p50$ при реальных значениях pH и pCO_2 с 40,3 (38,2; 41,3) до 36,6 (36,4; 37,6) ($p < 0,05$) мм рт. ст. при концентрации 100 нг/мл, что отражает сдвиг КДО влево (рис.29). При увеличении его концентрации величина данного параметра также уменьшалась, но не дозозависимо. Усиливается активность L-аргинин-NO системы: рост уровня нитрат/нитритов в плазме крови (рис.30). Это указывает на новый плеiotропный эффект симвастатина, реализуемый через изменение SGK за счет изменения образования NO.

Представленные данные о характере изменения кислородсвязывающих свойств крови реализуются через механизм относительно автономной системы регуляции свойств крови, которая обеспечивает адаптивное поведение кислородсвязывающих свойств крови при перестройке характера ее функционирования и в целом всей системы транспорта кислорода. Проведенные исследования демонстрируют новый аспект действия небиволола и симвастатина, реализуемый через кислородтранспортную функцию крови, что необходимо учитывать при терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы.

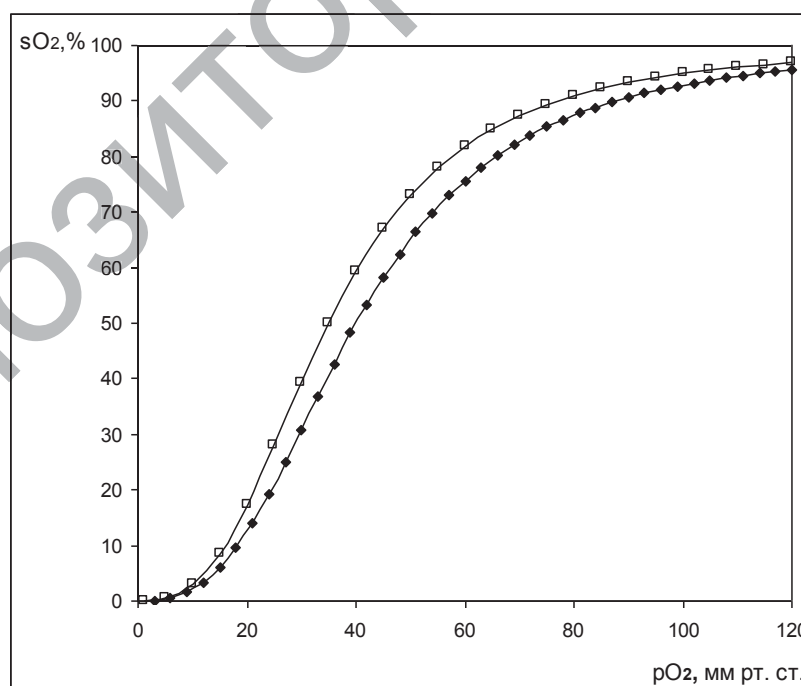


Рисунок 29. – Кривые диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH , pCO_2 и температуры при инкубации с раствором изотонического раствора NaCl (◆) и симвастатином в дозе 100 нг/мл (□)

В связи вышеизложенным представляется важным исследовать влияние патогенетической терапии, основанной на применении небиволола и симвастатина, на механизмы транспорта кислорода и свободнорадикального окисления липидов у пациентов с ИМ в сочетании с СД 2-го типа. Подчеркивается необходимость для обоснования рациональной комплексной терапии с учетом тяжести течения СД определять не только показатели кислотно-основного состояния крови, но и степень нарушения кислородтранспортной функции крови, прежде всего SGK [Тишковский С.В., 2002].

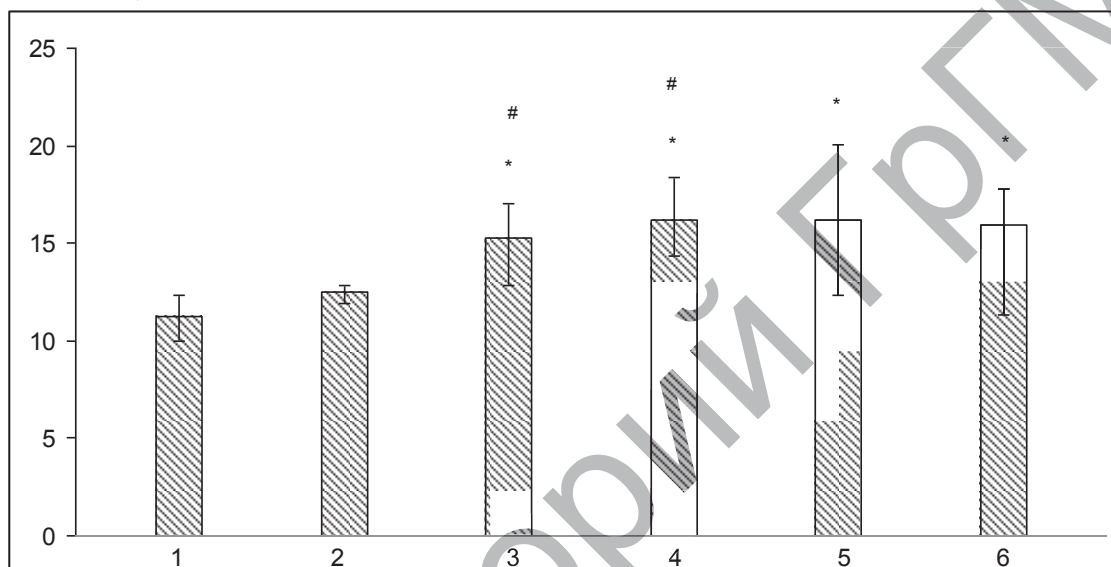


Рисунок 30. – Изменения концентрации нитрат/нитритов в плазме крови при инкубации с симвастатином: контроль (1); L-аргинин (2); симвастатин в дозе 50 (3), 100 (4), 250 (5) и 500 (6) нг/мл; * – достоверные изменения по отношению к контролю; # – по отношению к L-аргину

Функциональное состояние эндотелия и концентрации нитрат/нитритов в плазме крови у пациентов с ИМ при СД 2-го типа [Глуткина Н.В., Пырочкин В.М., 2013] были ухудшены в сравнении с аналогичными показателями у пациентов с ИМ, а в результате проводимой терапии (с включением небиволола и симвастатина) в период 25-60-е сутки происходило некоторое улучшение NO-образующей функции эндотелия. Кислородный статус у них характеризовался развитием гипоксии и некоторым уменьшением ее проявлений к концу исследуемого периода. SGK при реальных условиях циркуляции у них не изменялось, и соответственно положению КДО до и после проведенной терапии практически не

различалось. Ряд авторов указывают, что по мере нарастания тяжести ССН степень адаптивного сдвига КДО уменьшается [Добродей М.А. и др., 1996]. Так, у пациентов с ИБС: стабильной стенокардией напряжения, ФК II увеличивались менее выражено $p50$ и 2,3-ДФГ, чем при I ФК заболевании. Параметры прооксидантно-антиоксидантного состояния крови [Глуткина Н.В., Пырочкин В.М., 2013] отражают развитие окислительного стресса на 25-е сутки и незначительное уменьшение его проявлений на 60-е сутки. Как видим, у данной категории пациентов в нашем исследовании, несмотря на проводимую терапию, в частности, лекарственными средствами, воздействующими на образование NO, не наблюдается значимых улучшений кислородзависимых процессов, как это отмечалось у пациентов только с ИМ. Очевидно, у них не происходит более полного восстановления вазомоторной функции, что проявляется в снижении эффективности утилизации кислорода, сохранении сдвига КДО вправо к концу периода проводимого лечения (на 60-е сутки), направленного на более адекватное обеспечение тканей кислородом.

У пациентов с ИБС – стабильной стенокардией напряжения, ФК II, ассоциированной с ИР – при полярографическом исследовании выявлено ухудшение показателей тканевого транкапиллярного обмена кислорода, характеризовавшееся депрессией адаптивных возможностей функции проницаемости капилляров, снижением резервных возможностей микроциркуляторного русла и доставки кислорода в ткани [Тепляков А.Т. и др., 2013]. В другой группе нашего исследования у пациентов с ИМ в сочетании с МС было оценено влияние β -блокатора (небиволола) и статина (симвастатина), включенных в терапию, на показатели механизмов транспорта кислорода и прооксидантно-антиоксидантного состояния крови. Наблюдалось улучшение функционального состояния эндотелия плечевой артерии и увеличение концентрации нитрат/нитритов в плазме крови у пациентов с МС, что связано с применением терапии, направленной на улучшение функционирования L-аргинин-NO системы.

У пациентов с ИМ в сочетании с МС к концу 60-х суток от начала данного заболевания проявления кислородного дефицита уменьшаются в сравнении с 25-ми сутками [Глуткина Н.В., Пырочкин В.М., 2013]. В тоже время у данных пациентов не выяв-

лено различий в положении КДО как при реальных, так и при стандартных значениях. Однако при разделении исследуемых пациентов на подгруппы по критерию наличия СД 2-го типа отмечаются определенные особенности кислородного обеспечения. У исследуемых пациентов без СД 2-го типа СГК повышается ($p50_{\text{реал}}$ снижался с 29,9 (28,9; 31,6) до 26,2 (23,6, 30,9) мм рт.ст., $p < 0,05$), а при наличии СД 2-го типа положение КДО не изменялось. Величина $p50_{\text{станд}}$ в данных подгруппах имела близкий характер изменений. Это согласуется с данными других исследователей о том, что при прогрессировании заболевания ИБС: стабильной стенокардией напряжения, ФК III, судя по показателю СГК $-p50$, адаптивные свойства крови к гипоксии также резко снижаются, особенно у пациентов с выраженными факторами риска (сопутствующая АГ, курение) [Добродей М.А. и др., 1996].

Очевидно, снижение показателя $p50$ и, соответственно, сдвиг КДО влево отражают улучшение адаптационных ресурсов сосудистого компонента механизма транспорта кислорода и его доставку в ткани. Изменение СГК через разные механизмы может влиять не только на поток кислорода в ткани, но и на прооксидантно-антиоксидантный баланс организма при окислительном стрессе [Шамова Е.В., 2011], что имеет место и в данном исследовании (сдвиг КДО к нормальному положению и уменьшение проявлений прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса). Эффективность используемой терапии в данном исследовании (β -блокаторы, статины) связана не только с уменьшением ДЭ, но и с их плеiotропным эффектом, влиянием на кислородзависимые процессы.

Анализ показателей кислородтранспортной функции крови у исследуемых пациентов позволяет обосновать выделение групп пациентов в постинфарктный период с разной степенью тяжести, что позволяет дифференцировать тактику ведения амбулаторного этапа реабилитации. Нами предложено рассчитывать специальный параметр – индекс вероятности осложнений для прогнозирования возникновения осложнений (по анализу вероятности возникновения осложнений, определяемого по расчетному индексу вероятности осложнений по приросту $p50$ на 25-е и 60-е сутки от начала заболевания). При индексе вероятности осложнений, близком к 0 (-0,7 и -2,1%), частота осложнений в несколько раз

выше (6,5 и 5,63), чем при значении этого индекса 10,3%. У данных пациентов определение значений показателя СГК – $p50$ – на 25-е и 60-е сутки после начала заболевания, последующий расчет индекса вероятности осложнений позволяет оценить риск возникновения осложнений.

У данных пациентов с МС в сочетании с СД 2-го типа сохраняется сниженным СГК, несмотря на проводимую терапию, а у пациентов, не осложненных СД, отмечается повышение СГК, что, очевидно, обусловлено более полным восстановлением механизмов, формирующих кровотоки, как важнейшей составляющей функциональной системы транспорта кислорода.

У пациентов с СД 2-го типа и ИБС на фоне роста уровня активных форм кислорода и развития окислительного стресса показано увеличение редокс-потенциала глутатиона в эритроцитах [Буко И.В. и др., 2012]. Окислительный стресс, основу которого составляют свободнорадикальные реакции, есть важный патогенетический фактор многих заболеваний, связанных с функциональными нарушениями биологических мембран, вызывающий серьезные, подчас необратимые изменения в метаболических внутриклеточных процессах [Горожанская Э.Г., 2010]. Одной из стратегий коррекции оксидативного стресса является использование препаратов, имеющих плеiotропные свойства на окислительно-восстановительную систему, которые оказывают опосредованное благоприятное влияние на эндотелиальную функцию, ингибируя активность НАДФ-оксидазы, уменьшая экспрессию NO [Пристром А.М., Бенхамед М., 2012]. В данном аспекте важно отметить, что L-аргинин-NO система может быть дополнительным эффективным механизмом регуляции как прооксидантно-антиоксидантного баланса, так и кислородсвязывающих свойств крови.

Метаболические нарушения, развивающиеся при СД 2-го типа, влияют на развитие и прогноз острого ИМ, что указывает на особое значение проводимой терапии [Ярошевич Н.А. и др., 2011]. Всестороннее знание патофизиологических механизмов данного процесса позволит определить терапевтическую стратегию, направленную на оксидативный стресс как на возможную цель при лечении сердечно-сосудистых заболеваний [Пристром А.М., Бенхамед М., 2012]. Нарушение биодоступности NO (по-

давление экспрессии/инактивации эндотелиальной NO-синтазы и снижение синтеза NO; повышение его деградации) играет ключевую роль в развитии ДЭ под влиянием таких известных факторов риска ИБС, как АГ, курение, дислипидемия, СД [Мартынов А.И. и др., 2005]. Действие используемых препаратов (небиволола и симвастатина) опосредовано путем модификации автономной внутриэритроцитарной системы регуляции кислородсвязывающих свойств крови.

У пациентов с неизмененными коронарными артериями эритроцитарное звено обладает компенсаторным потенциалом и участвует в регуляции коронарного кровотока, в то же время при сопутствующем СД 2-го типа, особенно в случае ишемии миокарда, эти компенсаторные механизмы минимальны [Горохова С.Г., Атаманова М.А., 2008]. Оценка функции эндотелия, кислородтранспортной функции крови может быть эффективна для дифференцированного применения лекарственной терапии. Нарушение NO-синтазной функции эндотелия обуславливает в значительной степени потерю контроля за сосудистым тонусом, нарушение транспорта кислорода к тканям, возникновение прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса, приводя к снижению адекватного обеспечения тканевых потребностей в кислороде [Зинчук В.В., 2009].

МС обуславливает формирование целого каскада обменных и регуляторных нарушений, которые прямо или опосредованно влияют на систему гемостаза, реологические свойства крови [Митьковская Н.П. и др., 2008], в частности механизмы транспорта его кислорода. Сочетание атеросклеротического процесса с гипергликемией и ИР сопровождается более выраженным нарушением функционального состояния микроциркуляторного русла по сравнению с пациентами без СД 2-го типа за счет снижения резерва вазодилатации микрососудов и нарушения кровотока периферических тканей [Каменская О.В. и др., 2012]. Способность транспортировать кислород к тканям, использовать его во время нагрузки у пациентов с СД, имеющих ИБС и ХСН, снижена [Бондаренко И.З. и др., 2009]. Участие лептина в реализации кислородтранспортной функции крови может быть реализовано как через механизмы вентиляции легких, влияющие на насыщение крови в этих структурах, так и через влияние непосредственно на

гемоглобин: его количество, соотношение различных возрастных фракций (молодые, старые), модификация кислородсвязывающих свойств крови. В конечном итоге данные изменения обуславливают тот или иной режим кислородного обеспечения организма.

Выявлены изменения ряда показателей кислородтранспортной функции крови (pO_2 , SO_2 , $p50$ и другие) у пациентов в постинфарктный период, которые свидетельствуют о нарушениях кислородного обеспечения организма, обусловленных изменениями в миокарде ишемического характера кислородом и субстратах метаболизма гипертрофированных кардиомиоцитов и сниженным уровнем кровоснабжения. Отмечаемые сбои со стороны механизмов транспорта кислорода кровью связаны с состоянием L-аргинин-NO системы, в частности NO-синтазой эндотелиального типа. В развитии данной патологии играет немаловажную роль сложный мультифакторный механизм, включающий избыточный вес, АГ, инсулинорезистентность, СД, гиперлептемию и другое, что в совокупности приводит к развитию ДЭ, изменению синтеза NO и его производных, внутриэритроцитарных механизмов регуляции кислородсвязывающих свойств крови, определяя развитие гипоксии, окислительного стресса, и в конечном итоге – течение постинфарктного периода (рис. 31). Достижение терапевтического эффекта при использовании NO-зависимых средств, таких препаратов, как небиволол и симвастатин, реализуется через воздействие на данный механизм.

В компенсации тканевой гипоксии сердца важная роль принадлежит механизмам кислородного транспорта, которые определяются локальным кровотоком, SGK, утилизацией O_2 тканями, что обеспечивает возможность компенсации дефицита кислорода в тканях, адекватный уровень метаболизма в органах на разных этапах адаптации [Балыкин М.В., Каркобатов Х.Д., 2012]. Энергодефицит при гипоксии замыкает порочный круг: недостаток кислорода нарушает энергетический обмен и стимулирует свободнорадикальное окисление, активация данных процессов, повреждая мембраны митохондрий и лизосом, усугубляет энергодефицит [Оковитый С.В. и др., 2012].

У пациентов с ИБС наряду с такими механизмами компенсации гипоксии миокарда, как выработка эндотелием NO, приводящая к расширению коронарных сосудов в ответ на действие

различных стимулов, имеет определенное значение кислород-транспортная функция крови [Янковская Л.В. и др., 2007]. Увеличение *p50* благоприятствует увеличению потока кислорода в ткани в условиях нормоксии или умеренной гипоксии, в тоже время его уменьшение может иметь благоприятное значение, обладая антиоксидантным эффектом в условиях нарушенной утилизации кислорода тканями [Зинчук В.В., 2003].



Рисунок 31. – Участие кислородсвязывающих свойств крови в развитии инфаркта миокарда с МС или СД 2-го типа [Пырочкин В.М., Глуткина Н.В., 2014]

Таким образом, оценка эффекта патогенетической терапии с включением небиволола и симвастатина на кислородсвязывающие свойства и параметры прооксидантно-антиоксидантного состояния крови позволит дополнить и переосмыслить фармакологические механизмы действия препаратов с точки зрения воздействия на кровь с позиции модуляции продукции NO. Установленные данные обосновывают новые пути коррекции кислород-транспортной функции крови, дают возможность назначать дифференцированную адекватную терапию пациентам с ИМ в сочетании с МС и СД 2-го типа. Полученные результаты важны для по-

нимания генеза данной патологии, улучшения результатов консервативной терапии, увеличения продолжительности ремиссии. Выявленные закономерности могут быть использованы для разработки диагностических и лечебных мероприятий по коррекции различных патологий сердечно-сосудистой системы, сопровождающихся метаболическими нарушениями.

Репозиторий ГРГМУ

ГЛАВА 3.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ДЕФОРМИРУЕМОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ КАК ФАКТОР УЛУЧШЕНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ВИШЕМИЗИРОВАННЫХ ТКАНЯХ

Наряду с традиционной терапией ИБС и активацией деоксигенации оксигемоглобина привлекает пристальное внимание проблема фармакологической регуляции ДЭ и анализ влияния этого фактора на уровень микроциркуляции вишемизированных тканей. В частности, еще Н. Schmid-Schonbein[1982] было показано, что в ткани млекопитающих объемом $100 \times 100 \times 1000$ мкм имеется до 16 капилляров со средним диаметром 3,75 мкм, что при адаптационном изменении формы эритроцита может поддерживать относительно высокий уровень микроциркуляции и резко повышать диффузионное поступление кислорода в ткани. С другой стороны, динамика микроциркуляции зависит от числа функционирующих капилляров, которое колеблется от 200-600 на 1 мм^2 в покоящихся мышцах до 600-5000 при нагрузке [Конради Г.П., 1973]. При этом следует отметить, что часть капилляров, имеющих диаметр ниже 2 мкм, обеспечивает циркуляцию лишь плазмы крови.

С ДЭ и, соответственно, эластичностью мембран эритроцитов связаны уровень трансмембранной диффузии кислорода, высвобождаемого при диссоциации оксигемоглобина, а также сдвиги микроциркуляции в тканях. Так, в частности, при снижении ДЭ перед внутривенным введением глутаральдегида отмечен значительно более выраженный (до 70% при 2% в норме) уровень элиминации таких эритроцитов из сосудистого русла в сравнении с интактными [SimchonS. et al., 1987]. При высокой ДЭ имеет место включение нутритивных капилляров, части резервных и плазматических капилляров в систему микроциркуляции. В мобилизации этих капилляров наряду со сдвигами ДЭ определенную роль играет также высвобождение оксигемоглобином связанного оксида азота [StamlerJ. et al., 1997] и образование в эритроцитах АТФ в ходе гликолиза [EllsworthM. et al., 1995].

Важно подчеркнуть, что фактор ДЭ особо значим при низких величинах перфузионного давления, что типично для микроциркуляции в ишемизированных тканях.

3.1 Структура и функция эритроцита

Анализ взаимосвязи структуры и функции эритроцитов в рамках рассматриваемой проблемы представляет интерес в трех основных аспектах:

- уточнения влияния элементов мембраны и цитоскелета эритроцитов на динамику СГК;
- оценки влияния особенностей организации структуры мембраны на трансмембранный переход O_2 в плазму крови и на ДЭ;
- исследования зависимости уровня микроциркуляции от динамики эластичности мембран.

Эритроцит представляет собой двояковогнутый диск со средним диаметром 8,3-8,7 мкм, толщиной клетки 1,5-1,7 мкм, поверхностью 129-160 мкм² и объемом 76-96 мкм³ [Bessis M., 1972]. Распределение эритроцитов по величине диаметра в норме и при патологии представлено на рисунке 15.

Продолжительность жизни эритроцита колеблется в пределах 80 дней. К этому времени мембрана "стареющего" эритроцита теряет эластичность и свои функциональные свойства, он задерживается в капиллярах селезенки, где и подвергается разрушению.

Цитоморфологии эритроцитов, в частности изучению состава и функциональной роли компонентов мембраны, посвящено множество исследований. Как следует из рассматриваемой схемы, эластичность мембраны эритроцита определяется разным уровнем интенсивности спектрин-актиновой сетчатой структуры [Discher D. et al., 2001]. Цепи спектрина образуют ячеистые тетрамеры, фиксируемые в мембране анкирином.

Спектрин связан также с мембранным белком гликофорин-ом С через протеин "Band 4.1", который стабилизирует связь спектрина с актином и аддуцином. Фосфорилирование анкирина, протеинов "Band 4.1; 4.9" ослабляет жесткость спектрин-актиновой системы.

Важно отметить, что при контакте оксигемоглобина с белками внутренней поверхности мембраны может наблюдаться и

снижение СГК. В частности, при взаимодействии оксигемоглобина с фрагментом 43-кДа белка в N-терминальной зоне протеина 3-Band, обеспечивающей перенос анионов, данный фрагмент, включающий 11 остатков аминокислот, рассматривается как аллостерический регулятор СГК [ZhangY. et al., 2003].

Здесь также уместно упомянуть, что липиды мембран эритроцитов, включающие холестерин, могут быть вовлечены в процесс развития атеросклероза [PasterkampG. et al., 2002]. С другой стороны, известны данные об отсутствии зависимости сдвигов ДЭ при стабильной стенокардии от уровня липидов в крови пациентов [Ганелина И.Е. и др., 2000].

Адаптационные изменения формы эритроцитов существенно влияют на внутриэритроцитарную динамику деоксигенации оксигемоглобина как за счет повышения числа молекул оксигемоглобина, прилежащих к мембране эритроцита, так и за счет конвекционного перемещения O_2 в цитоплазме при вращательном движении эритроцитов [Коржуев П.А., 1973] и волнообразном движении их мембран [ParpartA., HofmanJ., 1956; KreuzerF., HoofdL., 1982].

Молекула гемоглобина, представляющая собой цилиндр диаметром 57 Å и высотой 34 Å, покрытый слоем воды в 3 Å, образует сферу диаметром 74,5 Å. Из общего количества молекул гемоглобина в околосмембранном пространстве эритроцита находится около 2,86% (280 млн молекул гемоглобина). Вращательное движение эритроцитов в потоке крови и упаковка молекул гемоглобина в упорядоченной квазикристаллической структуре внутриэритроцитарной воды обеспечивают свободное вращательное движение молекул Нб, что позволяет гемоглобину захватывать и отдавать кислород даже при удаленном положении от мембраны эритроцита [Коржуев П.А., 1973].

“Ротационная” и “трансляционная” диффузия O_2 , высвобождаемого оксигемоглобином, рассматривается как основной механизм внутриэритроцитарного транспорта (рис.32) [Березовский В.А., Сушко Б.С., 1984].

Обстоятельный анализ физиологических аспектов роли ДЭ как адаптационного фактора формирования адекватного транспорта O_2 к функционирующим тканям, а также методов исследования ДЭ приведен в ряде обзоров, посвященных этой проблеме

[Атауллаханов Ф.И. и др., 1994; Зинчук В.В., 2001; Лисовская И.Л., 2004; Kikuchi G. et al., 1994; Smith J., 1983; Bhattacharya A., 2011].

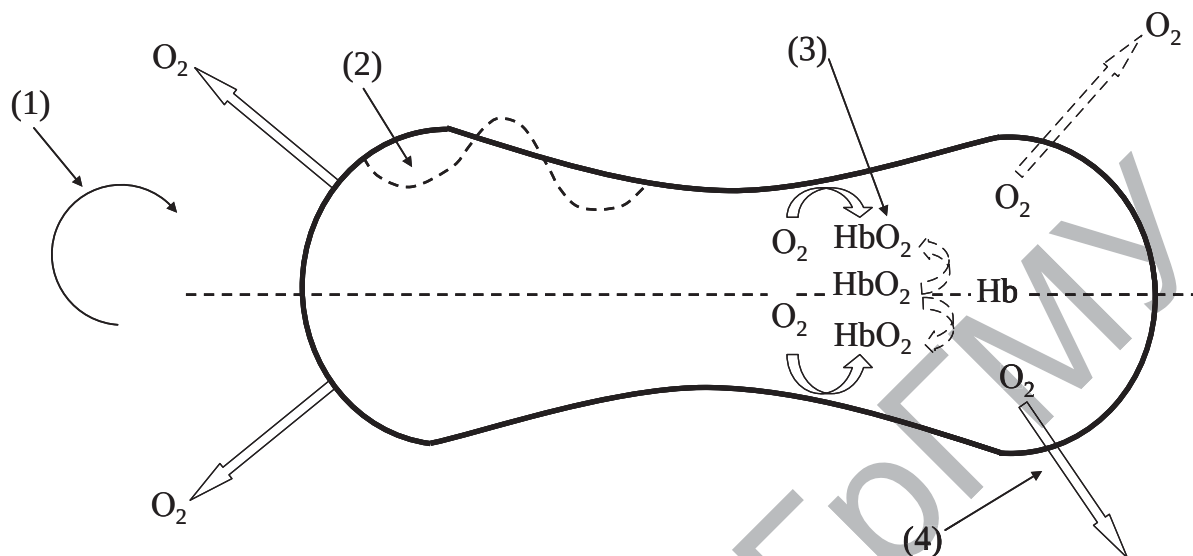


Рисунок 32. – Основные факторы внутриэритроцитарного переноса кислорода

1 – “ротационная” диффузия O_2 (гидродинамическая конвекция); 2 – волнообразная динамика мембран (“flicker-effect”), активирующая трансляционную диффузию O_2 ; 3 – “трансляционная” диффузия O_2 ; 4 – трансмембранная диффузия O_2

Таким образом, на ДЭ замыкается весьма значимая физиологически составляющая патогенеза многих заболеваний. С этих позиций фармакологическая коррекция ДЭ и таких важных компенсаторных реакций, сопряженных с ней, как сдвиги СГК и микроциркуляции, является одним из наиболее актуальных современных подходов к оптимизации клинической фармакотерапии.

3.2. Физиологическое значение деформируемости эритроцитов

При изучении проблемы транспорта кислорода не уделяется должного внимания оценке реологических свойств крови, несмотря на то, что значительно расширились наши знания в этой области. В данном обзоре на основе анализа литературных и собственных данных изложены современные представления о физиологической роли ДЭ, общих механизмах ее изменений и нару-

шений, необходимости учета данного свойства крови при оценке различных состояний организма, а также методах оценки.

Цельная кровь, с точки зрения биореологии, является аномальной, неньютоновской жидкостью, так как её поведение в области малых скоростей сдвига не подчиняется закону Ньютона. Вязкость крови убывает по мере увеличения градиента скорости сдвига (от 0 до 200 с^{-1}), а затем становится практически неизменной, асимптотической (рис.33). Реологические свойства крови определяются разными факторами, которые условно подразделяются на гемодинамические, клеточные, плазменные, факторы взаимодействия и внешних условий [Селезнев С.А. и др., 1985].

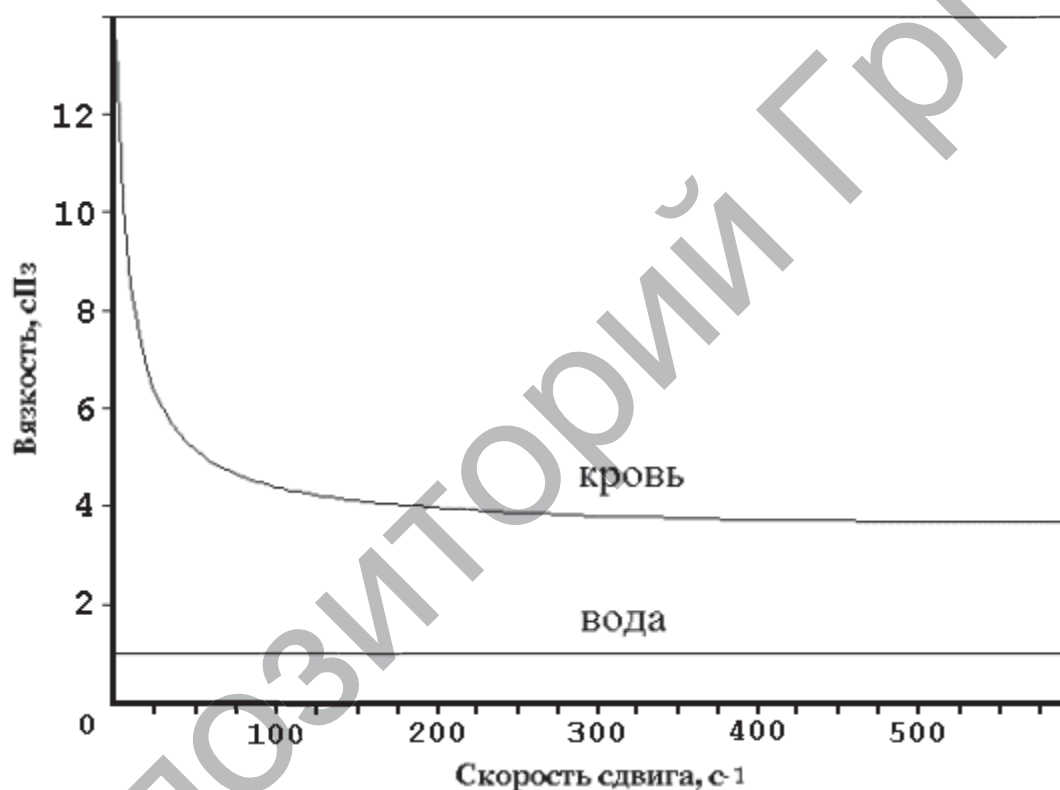


Рисунок 33. – Реологические свойства крови

Ключевая роль в формировании реологического поведения крови принадлежит форменным элементам, прежде всего эритроцитам, на объемную долю которых приходится до 98%. Нормальный эритроцит человека в стационарных условиях имеет двояковогнутую дискоидную форму, за счет этого его общая площадь увеличивается на 20% в сравнении со сферой такого же объема. Внутриэритроцитарная жидкость, содержащая гемоглобин, имеет вязкость около 7 сПз, что значительно выше, чем

значение вязкости цельной крови [Левтов В.А. и др., 1982]. Механические свойства эритроцитов обусловлены их Д, т.е. способностью изменять форму клетки под действием внешних сил. Это свойство определяет аномальное поведение крови в диапазоне скоростей сдвига от 50 до 150-200 с⁻¹.

Нормальные эритроциты, находящиеся в концентрированных суспензиях, при очень низких скоростях сдвига (3 сек⁻¹) значительно деформируются, а при более высоких (200 и выше сек⁻¹) уподобляются в своем поведении твердым частицам. В цельной крови эта закономерность имеет место и при меньших скоростях сдвига (около 150 сек⁻¹) [Каро К. и др., 1981]. За счет дезагрегации вязкость крови уменьшается от 110-120 до 10 сПз, а деформации эритроцитов – от 10 до 2 сПз.

Во время движения крови по сосудистому руслу эритроциты постоянно находятся в деформированном состоянии, при этом отмечается ротация мембраны относительно внутриэритроцитарного содержимого, этот феномен получил название «гусеница танка» [Глазер Р.Г., 1988], значительно меняются форма и размеры эритроцитов (рис.34). Особо существенные изменения формы эритроцитов наблюдаются в микроциркуляторном русле, некоторые капилляры которого имеют диаметр около 2 и менее мкм. Прижизненная микроскопия показала, что эритроциты, движущиеся в капилляре, подвергаются значительным деформациям, приобретая при этом разнообразные формы [Чернух А.М. и др., 1984]. В соответствии с законами гидродинамики эритроциты располагается в капилляре вдоль его оси, при этом его вращение прекращается, но деформация типа растяжения возрастает. В сдвиговом потоке эритроциты испытывают два типа кинематического поведения: ротацию и стабильную ориентацию с удлинением [Катюхин Л.Н., 1995]. Нормальные эритроциты способны значительно деформироваться, не меняя при этом своего объема и площади поверхности [Каро К. и др., 1981]. Эта особенность движения эритроцитов в потоке имеет чрезвычайно важное значение для поддержания оптимальности процессов диффузии газов. Показано, что при улучшении деформабельных свойств эритроцитов повышается перенос кислорода в ткани, а при их ухудшении поступление кислорода в ткани снижается, тканевое рО₂ падает [George C. Etal., 1983].

В капилляре контур сечения эритроцитарного диска в горизонтальной и вертикальной плоскостях уменьшается более чем в два раза, а в сагиттальной, наоборот, растягивается во столько же раз [Козлов М.М., Маркин В.С., 1986]. В сосудистом русле эритроциты перемещаются в плазме крови не хаотично, а в постоянном вращательном движении, совершая вокруг своей оси до 90 об/сек [Коржуев П.А., 1973]. Такое поведение присуще только безъядерным эритроцитам человека и млекопитающих, которые являются уникальными и сверхспециализированными клетками крови, идеально приспособленными для максимального связывания кислорода и поступления его из капилляров в ткани [Schmid-Schonbein H., 1982].



Рисунок 34. – Изменения дискоидной формы эритроцитов при его деформации, возникающей при разных напряжениях сдвига [Зинчук В. В., 2001]

Особо велико значение ДЭ для микроциркуляции на отдельных ее участках, когда диаметр кровеносных сосудов меньше размеров статического эритроцита. Прохождение данных кле-

ток через эти капилляры определяется их способностью к деформации. Деформация эритроцитов повышает гидродинамическое перемешивание его цитоплазмы. Это ведет к усилению внутриклеточной конвекции кислорода, дезокси- и оксигемоглобинов, что также благоприятствует внутриэритроцитарной диффузии кислорода и является одним из механизмов внутриклеточного транспорта кислорода, обуславливающего высокий коэффициент переноса кислорода при относительно низком коэффициенте диффузии [Березовский В.А., Сушко Б.С., 1984].

Сниженная ДЭ при гипоксии, судя по времени прохождения флуоресцентно меченных эритроцитов между функционально связанными артериолами и венами и получаемой их дисперсии в сети микрососудов, ведет к рекрутированию капилляров, перераспределению эритроцитов внутри сосудистой сети и их выходу из обычных путей, что отражает неблагоприятное влияние на физиологические механизмы, обеспечивающие адекватную доставку кислорода в ткань [Parthasarathi K., Lipowsky H.H., 1999].

Поведение эритроцитов, подобное поведению жидкой капли, перемешивание внутриэритроцитарного гемоглобина, благоприятное отношение площади поверхности к объёму эритроцита создает оптимальные условия для обеспечения оксигенации тканей разветвленной сетью мелких капилляров. Улучшение вязко-эластических свойств эритроцитов благоприятствует транспорту кислорода через эритроцитарную мембрану за счет увеличения его переноса, а их нарушение коррелирует с ухудшением оксигенации тканей. Ухудшение ДЭ обуславливает развитие застойных явлений в микроциркуляторном русле и как следствие, – возникновение тканевой гипоксии [Kikuchi Y. Etal., 1994]. В опытах на изолированном легком кролика показано, что ДЭ влияет на величину артериального давления в нем и легочный коэффициент диффузии кислорода [Betticher D.C. etal., 1995]. ДЭ за счет усиления конвекции их содержимого в большей степени способствует переносу кислорода, чем облегченная диффузия [Kreuzer F., Hoofd L., 1982].

Нормальная ДЭ является важным фактором поддержания необходимой перфузии в микроциркуляторном русле, особенно при низких градиентах артериального давления, а ухудшение этого свойства эритроцита ведет к более выраженным измене-

ниям показателей гомеостаза и гемодинамики [Driessen G. K. Etal., 1980]. Показано, что вязкость жидкости, состоящая из жестких частиц, таких же по размерам, что и эритроциты (гематокрит 85%), составляет 10^5 сПз, а аналогичная жидкость с хорошо деформируемыми частицами с таким же значением показателя гематокрита – 5 сПз [Dintenfass L., 1964].

Степень ригидности эритроцитов оказывает существенное влияние на реологические свойства крови, на проявление феномена Фареуса-Линдквиста. При инкубации суспензии эритроцитов с глютаровым альдегидом наблюдается увеличение вязкости в области высоких скоростей сдвига [Schneditz D. Etal., 1985], суспензия утрачивает свойства неньютоновской жидкости [Левтов В.А. и др., 1982]. В опытах на собаках, перфузируемых в одном случае раствором гемоглобина, в другом – цельной кровью, было показано, что давление, необходимое для поддержания кровотока при перфузии кровью, составляет 73% от давления, необходимого для перфузии раствором гемоглобина [Snyder G.K. etal., 1973]. Выявлено, что ДЭ оказывает влияние на градиент осевого гематокрита в капиллярах миокарда [Baskurt O.K. etal., 1995].

Деформируемость также является лимитирующим фактором продолжительности жизни эритроцитов [Mohandas N. Etal., 1983]. Пластичные клетки красной крови способны достаточно легко проходить через отверстия в венозных синусах селезенки, старые, жесткие задерживаются и подвергаются деструкции и лизису. Деформируемые свойства определяют выход молодых фракций эритроцитов из синусоидов костного мозга в сосудистое русло [Smith J.E., 1983]. У спленэктомированных морских свинок ухудшение ДЭ в условиях экспериментального сепсиса было более выражено, что подтверждает важную роль селезенки в поддержании нормальных реологических свойств циркулирующих эритроцитов [Baskurt O.D., 1999].

Деформируемые свойства эритроцитов играют важную роль в легочной сосудистой сети путем механического воздействия на стенку капилляров и активации высвобождения ими сосудосуживающих веществ [Наким Т.С., 1994]. Высказано предположение о существовании уникального механизма контроля за сопротивлением легочных сосудов, согласно которому высвобож-

дение АТФ из эритроцитов происходит в ответ на их механическую деформацию, обуславливая стимуляцию синтеза вазодилатора NO [Sprague R.S. et al., 1996].

3.3 Факторы, определяющие деформируемость эритроцитов

Способность эритроцитов к деформации определяется внутренней вязкостью, вязкостно-эластичными свойствами мембраны и отношением объёма клетки к её площади [Bellary S. et al., 1995]. Упругие свойства мембраны определяют ее сопротивление к деформации, а вязкостные качества характеризуют резистентность скорости деформации [Катюхин Л.Н., 1995]. Цитоплазматическая вязкость эритроцитов существенно зависит от концентрации гемоглобина. В физиологических концентрациях это влияние невелико, однако, начиная с концентрации 370 г/л и более, ее величина возрастает [Mohandas N. et al., 1983]. За счет значительного увеличения внутриэритроцитарной вязкости существенно ухудшаются деформабельные свойства эритроцитов [Sorette M.P. et al., 1987]. Сниженная ДЭ новорожденных, в сравнении с эритроцитами взрослых связана с более высоким содержанием гемоглобина [Tillman W. et al., 1980]. Внутриэритроцитарная вязкость зависит и от вида гемоглобина, классическим примером чего является Нв-S при серповидноклеточной анемии. Для восстановленной формы этого гемоглобина характерно снижение растворимости в десятки раз, что ведет к образованию геля, имеющего более высокую вязкость. Аналогичное снижение ДЭ отмечается и при других гемоглобинопатиях, в частности у носителей аномальных нестабильных гемоглобинов [Mohandas N. et al., 1983]. В условиях эритроцитоза (повышение гематокрита до $50,69 \pm 0,57\%$) ДЭ не претерпевало существенных изменений [Гущин А.Г. и др., 2000].

Определяющее значение для ДЭ имеют вязкостно-эластичные свойства мембраны, которые определяются прежде всего состоянием спектрин-актинового комплекса и его взаимодействием с другими структурными элементами мембраны [Ивенс И., Скейлак Р., 1982]. P.L. La Celle, F.H. Kirkpatrick [1975] показали, что при добавлении спектрина к искусственным мембранам, на долю которого приходится около 75% всех белков мембраны, их деформабельные свойства улучшились более чем в

2 раза [Branton D. et al., 1981]. Для поддержания нормальных физико-химических свойств мембраны необходима АТФ. Снижение ее содержания в эритроцитах на 15 и более % изменяет характер взаимодействия спектрина, актина и других интегральных белков эритроцитарной мембраны, образующих единый комплекс, играющих важную роль в поддержании её структурно-энергетической целостности [Конев С.В., 1987]. При снижении концентрации АТФ в эритроцитах (при длительном хранении крови, при инкубации её при 37°C в течение нескольких часов) отмечается изменение их морфологических свойств и Д, что обусловлено блокадой Na^+/K^+ -насосов, ведущих к изменению электролитного баланса в эритроцитах [Mohandas N. et al., 1983]. Е.А. Черницкий, А.В. Воробей [1981] отмечают, что в создании физиологически оптимальной формы эритроцита важная роль принадлежит АТФ-зависимым системам, обеспечивающим фосфорилирование мембранных белков. Определенное влияние на пластичность мембраны эритроцитов оказывают и липиды. Снижение содержания АТФ в эритроцитах ведет к изменениям метаболизма липидов мембраны, увеличению уровня ацилглицеринов, что вызывает изменения формы и вязкостно-эластических свойств мембраны. Известно, что наряду с АТФ важное значение в стабилизации мембраны эритроцитов имеет и 2,3-ДФГ. Данный органический фосфат оказывает влияние на структурные перестройки как в гемоглобине, так и в эритроцитарной мембране. 2,3-ДФГ обратимо связывается со спектрином, придавая при этом необходимую эластичность мембранному каркасу [Sneet M., Casely J., 1980]. Увеличение концентрации в эритроцитах 2,3-ДФГ улучшает деформабельные свойства их мембраны [Waugh R.E., 1986].

Большинство факторов, влияющих на ДЭ, реализуют свое действие через их мембрану. Снижение ДЭ наблюдается при повышении в них концентрации несвязанных ионов Ca^{2+} , что обусловлено взаимодействием этих катионов с белками мембраны и влиянием на их фосфорилирование [La Celle P.L., Kirkpatrick F.H., 1975]. Для поддержания нормальной структуры цитоскелета эритроцитов необходимо определенное содержание в них ионов Ca^{2+} , Mg^{2+} [Stoltz J.F. et al., 1987]. Выявлено, что небольшие количества Mg , Zn улучшают ДЭ [Dupuy-Fons C. et al.,

1995]. Патогенетическим механизмом снижения ДЭ при АГ является нарушение активного и пассивного транспорта Na^+ и Ca^{2+} [Плотников М.Б. и др., 2000]. Чем больше отношение площади поверхности эритроцита к его объёму, тем выраженнее его деформируемые свойства. Эритроциты измененной формы характеризуются повышенной резистентностью к деформации [Chabamel A. et al., 1987]. Появление шипов на мембране эритроцита, его трансформация в зазубренный сфероид-эхиноцит обуславливает снижение способности эритроцитов к деформации [Morimoto M., Feo C.J., 1980].

Нарушение ДЭ, суспендированных в фосфатном буфере, было более выраженным в условиях гипотермии, что отражает значение факторов плазмы в формировании их реологических свойств [Kameneva M.V. et al., 1999]. На способность эритроцитов к деформации существенное влияние оказывают физико-химические факторы ($p\text{H}$, осмолярность, газовый состав, температура). ДЭ оптимальна при $p\text{H}=7,4$ [Koutsouris D. et al., 1985]. При сдвиге $p\text{H}$ в сторону ацидоза или алкалоза происходит её уменьшение, что является следствием изменения структуры плазматической мембраны [Crandall E.D. et al., 1978], в частности, нарушения взаимодействия белков, локализованных в цитоплазматической мембране. Отмечается увеличение времени фильтрации эритроцитов при прохождении их через поры фильтра в гипо- и гиперосмолярных средах [Schmid-Schonbein S.H., 1982]. ДЭ не зависит от содержания кислорода в крови и несколько ниже при возрастании $p\text{CO}_2$ [Koutsouris D. et al., 1985]. Температура оказывает двоякое влияние на этот параметр: с одной стороны, при ее увеличении в среде, в которой производится измерение, ДЭ улучшается [Fiocco R. et al., 1984], с другой, – длительное воздействие повышенной температуры *in vitro* (10 мин. и более при 48°C) снижает ДЭ [Kucera W. et al., 1986], что связано с уменьшением в них уровня АТФ и дефосфорилированным состоянием спектрина [Черницкий Е.А., Воробей А.В., 1981]. Рядом исследователей показано, что в эритроцитарной мембране в физиологическом диапазоне изменения температуры отмечаются два температурно-индуцированных структурных перехода (при $28-36$ и $42-46^\circ\text{C}$), проявляющиеся в изменениях светорассеяния теней эритроцитов, а также их проницаемости к

красителю 1-анилино-8-нафталинсульфотану и способности этих структур восстанавливать барьер проницаемости после осмотического гемолиза [Черницкий Е.А., Воробей А.В., 1981].

ДЭ претерпевает значительные изменения с возрастом. Старые клетки в сравнении с молодыми обладают пониженной Д [Nash G.B., Mesielman H.J., 1985], что обусловлено ухудшением эластичности мембраны и увеличением внутренней вязкости в результате роста внутриклеточного содержания гемоглобина и снижением концентрации АТФ [Tillman W. et al., 1980], а также снижением величины отношения поверхности Э к его объёму [Восси V., 1981]. Показано, что средняя внутриклеточная концентрация гемоглобина составляет для молодых Э 317 г/л, а для старых – 375 г/л, что эквивалентно величинам внутренней вязкости 9 сПз и 54 сПз, соответственно [Williams A.R., Morris D.R., 1980]. У старых Э отмечается модификация биохимических свойств мембран, что, наряду с другими факторами, может вести к повышению эритрофагоцитоза моноцитами [Racca A. et al., 1999]. ДЭ плода гораздо выше, чем материнского организма, что предполагает более эффективную доставку кислорода в его ткани, особенно в условиях низкого pO_2 [Eguchi K. et al., 1995]. В то же время в крови новорожденных наблюдается нарушение ДЭ, связанное с потерей его объема, и в целом с нарушением клеточной геометрии (образование больших количеств стоматоцитов, сфероцитов и т.д.) [Linderkamp O. et al., 1999]. Эритроциты у пятидневных доношенных новорожденных имеют на 25% меньший модуль эластичной сжимаемости, чем у взрослых [Meyburg J. et al., 2000]. Поддержание оптимального баланса арахидовой и додекагексановой кислот в биомембране имеет важное значение в формировании ДЭ и определяет их различие в крови матери и новорожденного [Ghebremeskel K. et al., 2000].

Рядом исследователей показано влияние разных гормонов на ДЭ, действие которых реализуется через рецепторно-индуцированные структурные перестройки мембран. Инсулин в физиологических концентрациях значительно улучшает реологические свойства эритроцитов [Datta-Roy A. et al., 1985]. Арахидоновая кислота, простагландин E_2 повышают ригидность эритроцитов, в то время как E_1 ее снижает [Stoltz J.F. et al., 1987]. Выявлен разнонаправленный эффект простагландинов на ДЭ, зависи-

мый от их концентрации [Allen J., Rasmussen H., 1971]. Стабильный аналог простаглицина – илопрост – улучшает ДЭ как при введении в организм, так и при инкубации с этими клетками [Starzyk D. et al., 1999].

3.4 Методы исследования деформируемости эритроцитов

Дальнейшие перспективы использования ДЭ как показателя сдвигов микроциркуляции в физиологических и фармакологических работах связаны с разработкой методических приемов и обоснованием их адекватности для оценки динамики ДЭ в клинических условиях.

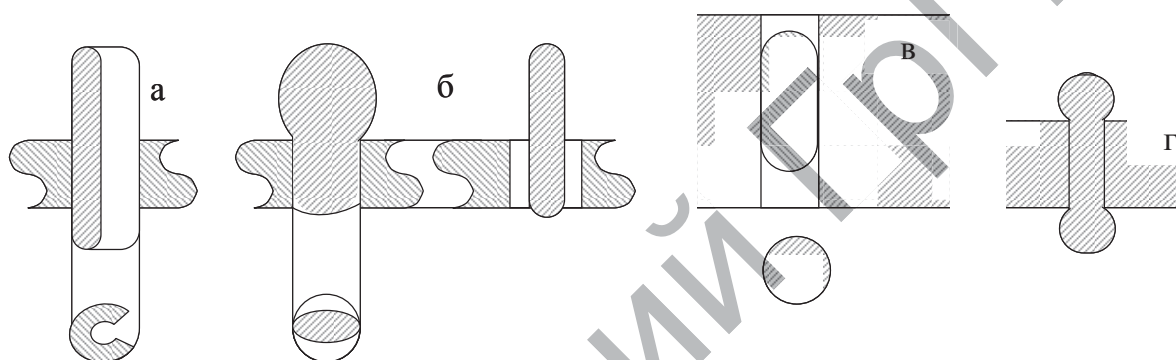


Рисунок 36. – Изменения формы эритроцита при эктацитометрическом (А) и фильтрационном (Б) методах определения деформируемости эритроцитов:

а – фильтрация в форме “трубочки”; б – деформация с утолщением в поперечной плоскости; в, г – закупорка пор фильтра при тотальном контакте мембраны эритроцита со стенками канала пор [Атауллаханов Ф.И. и др., 1994].

Начальный этап исследований в этом направлении основан на изучении фильтрационных свойств взвеси эритроцитов с использованием микрофильтров с диаметром пор 5 мкм [Schmid-Schonbein H., 1982]. Позднее были разработаны приборы для регистрации объема фильтрации суспензии эритроцитов в течение 10 минут [Teitel P., 1977 и др.] или среднего времени пассажа 250 эритроцитов [Kiesewetter H. et al., 1982]. При этом в последнем случае используются фильтры (рис. 36) с порами длиной 30 мкм и диаметром 3,5 мкм для крыс, 4,0 мкм для кроликов и собак и 4,5 мкм для эритроцитов человека.

Фильтрационный метод (рис. 37), к сожалению, несмотря на свою привлекательность, не позволяет выявить удельный вес субпопуляции эритроцитов, определяющей интегральные данные, ибо присутствие даже малых количеств эритроцитов с низкой деформируемостью может решающим образом влиять на скорость фильтрации. С этой точки зрения представляет интерес использование фильтрационно-осмотического метода определения ДЭ, дающего информацию также об уровне "критической" осмотичности основной массы исследуемых эритроцитов при низком (0,1%) гематокрите [Лисовская И.Л., 2004].

Сравнительно редко используется микропипеточный метод исследования, сущность которого состоит в оценке способности изолированного эритроцита полностью или частично входить в канал пипетки диаметром 1-3-4 мкм под воздействием отрицательного давления. Этот показатель эластичности мембран эритроцита определяется достаточно точно, однако проведение наблюдений на единичном эритроците существенно ограничивает сферу его применения в эксперименте [Reinhart W. et al., 1985].

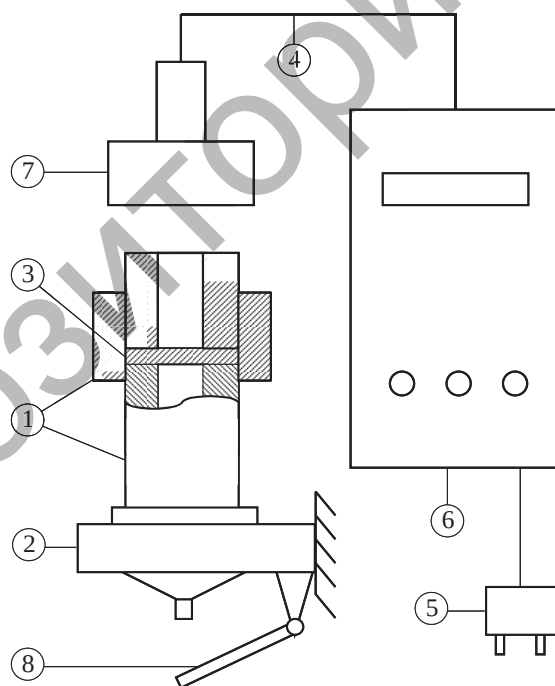


Рисунок 37.—Схема прибора для исследования деформируемости эритроцитов фильтрационным методом (ИДА-1М) [Атауллаханов Ф.И. и др., 1994]

1 — колонка-резервуар; 2 — кронштейн; 3 — фильтр ; 4 — кабель; 5 — блок питания; 6 — электронный блок регистрации с кнопками "Пуск",

"Стоп", "Сброс" и цифровым индикатором; 7 – датчик с вмонтированными тремя измерительными электродами; 8 – затвор

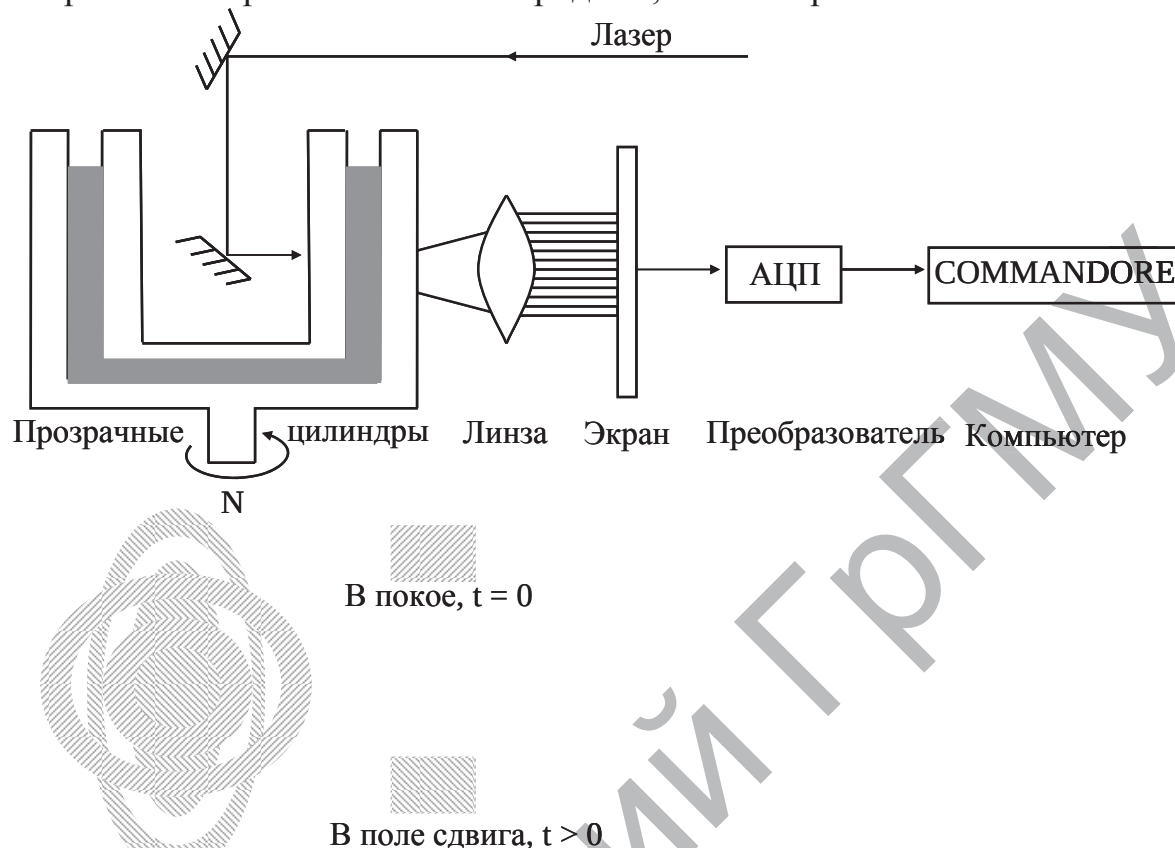


Рисунок 38. – Схема установки для лазерной дифрактометрии [Белкин А.В. и др., 1991]

N – скорость вращения, АЦП – аналого-цифровой преобразователь, COMMANDORE – электронно-вычислительный блок. Внизу схематически представлены изменения формы эритроцита при разном напряжении сдвига

Определенный интерес представляют также кондуктометрический способ исследования ДЭ на базе эктацитометрического метода [Русяев В.Ф., Чернов А.А., 1988], устройство для определения количества фильтрующихся эритроцитов из взвеси периферической крови за определенный отрезок времени [Ландарь В.А. и др., 1989] и ряд других модификаций, имеющих свои достоинства и недостатки.

В настоящее время наиболее широко используются эктацитометрический и фильтрационный методы регистрации ДЭ (рис.38), достоинства и недостатки которых детально рассмотрены в ряде обстоятельных публикаций [Зинчук В.В., 1989, 2001; Сигал В.М., 1989; Фирсов Н.И. и др., 1991; Атауллаханов Ф.И. и

др., 1994; Сторожок С.А., Белкин А.В., 1996; Лисовская И.Л. и др., 1998].

Определение ДЭ фильтрационным методом проводится на приборе ИДА-01(рис.37) с автоматической регистрацией времени фильтрации суспензии отмытых эритроцитов (рис. 39) через мембранный фильтр с диаметром пор 3 мкм под давлением 60 мм водного столба по тесту t_b/t_s , где t_s – время фильтрации 250 мкл суспензии эритроцитов и t_b – время фильтрации 250 мкл ресуспендирующего раствора [Лисовская И.Л. и др., 1999]. Индекс ригидности (IR) рассчитывают по формуле: $IR = (t_s - t_b)/t_b \cdot 100/Ht$, где t_s – время фильтрации 250 мкл суспензии эритроцитов, t_b – время фильтрации 250 мкл ресуспендирующего раствора, а Ht – гематокрит суспензии (%).

Для дальнейшей оценки ДЭ по И.Л.Лисовской и др. [1999] используется регистрация указанных показателей при снижении осмолярности ресуспендирующего раствора до прекращения фильтрации (u_{cr}) суспензии эритроцитов с 0,1 и 1% гематокрита.

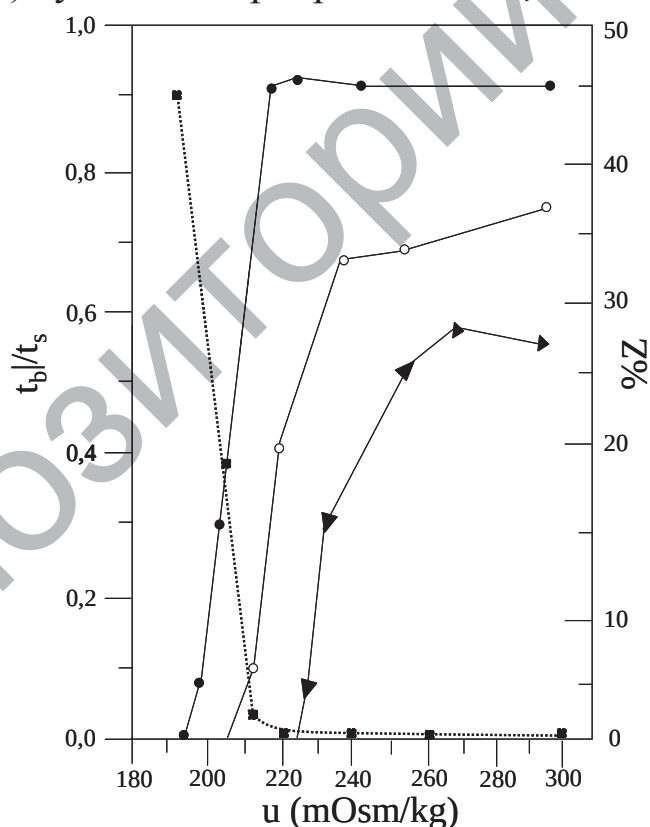


Рисунок 39. – Зависимость относительной скорости фильтрации (t_b/t_s) процента нефилтрирующихся клеток ($Z\%$ – пунктирная линия) от осмолярности (u) среды

Цифрами указаны значения гематокрита [Лисовская И.Л. и др., 1999]

В плане уточнения механизма формирования изменений ДЭ весьма интересным представляется проведенный Н.Н. Фирсовым и др. [1991] анализ роли в сдвигах ДЭ изменений эластических свойств мембран эритроцитов и гемоглобинзависимой вязкости внутриклеточной среды эритроцитов.

Обзор современных методик измерения ДЭ с анализом сфер применения каждой из них приведен в основательной работе М. Museilac [2009]. В последние годы интенсивно развиваются новые подходы к системному исследованию ДЭ, в частности микророжидкостные методики [Zheng Y. et al., 2013], атомно-силовая микроскопия [Chen X. et al., 2009], использование микроканальцевого клеточного анализатора [Lee S. et al., 2006].

Таким образом, ДЭ рассматривается как интегральный показатель, влияющий на состояние микроциркуляции, является важным объектом исследования при анализе специфического фармакологического действия противоишемических средств. Это направление исследований представляется тем более актуальным, что разработанные методические подходы к оценке ДЭ, в частности, эктацитометрические и фильтрационные, уже позволили накопить солидную информационную базу данных, подкрепляющую клиническую значимость результатов исследования ДЭ.

3.5 Деформируемость эритроцитов при нарушениях кислородного обеспечения

Ухудшение ДЭ наблюдается при многих заболеваниях сердечно-сосудистой системы, крови, СД, хирургической патологии [Banerjee R. et al., 1998; Зверко В.Л. и др., 1999]. Механизм действия многих широко используемых фармакологических средств (например, реополиглюкин, гепарин, солкосерил и др.) основан на улучшении реологических свойствах крови, в частности ДЭ [Селезнев С.А. и др., 1985]. Это свойство красных клеток крови влияет на проницаемость фибриновой сети внутрисосудистого тромба, что следует учитывать при действии фибринолитических средств [van-Gelder J.L. et al., 1996]. Выдвинута гипотеза о ведущей роли неишемической гипоксии в патогенезе атеросклероза, вызванного нарушением ДЭ [Simanopok J.P., 1996]. Этот параметр является одним из факторов травматического повреждения эндотелия в области разветвления сосудов, стеноза за счет

повышения местного напряжения сдвига [Becker R.C., 1993]. Аномальные реологические эритроциты играют роль в развитии диабетической микроангиопатии [Linderkamp O. et al., 1999].

Множественный корреляционный анализ зависимости индекса ДЭ и основных показателей кислородтранспортной функции крови при перегревании выявил между ними умеренную отрицательную корреляционную связь (коэффициенты корреляции колеблются в пределах от -0,36 до -0,89) [Зинчук В.В., 1997]. Так, через 60 мин. после окончания перегревания, когда признаки гипоксии наиболее выражены, величина ИД максимальна, что, очевидно, отражает срыв компенсаторных возможностей системы транспорта кислорода. По-видимому, отмечаемое снижение данного показателя под влиянием высокой внешней температуры лимитирует адекватное поступление кислорода в ткани и отражает степень кислородной недостаточности.

В опытах по моделированию лихорадки на кроликах установлено, что через 180 мин. после введения ЛПС в организм индекс ДЭ, определяемый эктацитометрическим методом, уменьшается на 37,5% ($p < 0,01$), а через 240 мин. – на 29,2% ($p < 0,05$), что вносит определенный вклад в развитие кислородной недостаточности при лихорадке. При этом состоянии имеет место повышение температуры тела, что может влиять на улучшение вязкостно-эластических свойств эритроцитов, однако, как было нами показано ранее в опытах *in vitro* на кроличьих эритроцитах, в диапазоне температур 37-42°C прямой эффект температуры сравнительно невелик [Зинчук В.У., 1993]. Очевидно, более значимым является непосредственное влияние экзогенного липополисахаридного комплекса на мембрану эритроцита. Известно, что обработка эритроцитов ЛПС от грамотрицательных бактерий в течение 90 мин. вызывает выраженное снижение ДЭ, обусловленное конформационными изменениями мембранных белков за счет повышения цитоскелетных межбелковых взаимодействий в мембране [Bellary S.S. et al., 1995]. Рядом авторов показано, что инкубация крови с ЛПС приводит к значительному повышению вязкости мембран эритроцитов, хотя при удалении лейкоцитов этот эффект не отмечался [Todd J.C. et al., 1993].

Анализируя сопряженность исследуемых процессов транспорта кислорода и свободнорадикального окисления в условиях

развития гипертермии и лихорадки, необходимо учитывать в этом и роль деформабельных свойств эритроцитов. Повышение ригидности этих клеток при гипертермических состояниях сильно коррелирует со степенью нарушения кислородного обеспечения и усилением активности процессов ПОЛ [Зинчук В.В. и др., 1995].

Выявлено ухудшение ДЭ при активации процессов ПОЛ и снижении факторов антиоксидантной защиты при разных состояниях. Внутриклеточное накопление перекисей липидов, возникающее при аутоокислении полиненасыщенных жирных кислот мембран, снижает ДЭ [Imre S.G. et al., 1994]. Активация свободнорадикальных процессов обуславливает гемореологические нарушения, реализуемые через повреждение циркулирующих эритроцитов (потеря мембранных липидов, повышение жесткости билипидного слоя, агрегация мембранных белков), оказывая опосредованное влияние и на другие показатели кислородтранспортной функции крови, и в целом транспорт кислорода в ткани. Установлено, что ДЭ очень чувствительна к свободным кислородным радикалам, что проявляется в увеличении времени их прохождения через поры фильтра и обусловлено перекрестным сшиванием спектрина и гемоглобина, предупреждаемое введением СОД и каталазы [Baskurt O.K., 1999]. СОД, вместе с другими компонентами антиоксидантной системы, обеспечивает регуляцию прооксидантно-антиоксидантного состояния организма через стабилизацию мембранных структур клетки. Несомненно, основным проявлением повреждающего действия радикалов на мембраны является деструкция ее липидного компонента. Широкий арсенал механизмов поддержания "гомеостаза вязкости" биологической мембраны не допускает дезинтеграцию ее многокомпонентной системы. Кратковременная инкубация эритроцитов от пациентов с СД с креатинином улучшало их фильтруемость и устойчивость к свободнорадикальному окислению, обусловленному его способностью ингибировать ПОЛ, что вносит вклад в поддержание нормальной ДЭ [Lipovac V. et al., 2000].

Окислительное повреждение эритроцитов сопровождается изменениями белкового и липидного компонента клеточных мембран. Активация процессов ПОЛ является важным механизмом ухудшения ДЭ при разных патологических состояниях.

Отмечаемое при перегревании и лихорадке ухудшение ДЭ, несомненно, играет существенную роль в снижении количества кислорода, диффундируемого из капилляров в окружающую ткань, лимитирует адекватность процессов транспорта кислорода в ткани и его потребление через разные механизмы. Повышение ригидности эритроцитов ведет к резкому снижению внутритканевого pO_2 , происходящему за счет уменьшения конвекции внутриэритроцитарного кислорода, окси- и дезоксигемоглобинов. Перенос кислорода к тканям в этом случае непосредственно достигается в основном лишь за счет процессов простой диффузии. Десатурация крови в микроциркуляторной сети будет протекать не в полном объёме (по отношению к исходному состоянию), так как из процессов оксигенации выпадает определенная часть ригидных эритроцитов, которые не способны войти в узкую часть капилляра и минуют его через шунтирующие анастомозы. Происходящая кислородная артерио-венозная трансляция также препятствует и оксигенации крови в легочных капиллярах. Ухудшение микрореологических свойств крови будет сказываться на достижении полезного приспособительного результата функциональной системы транспорта кислорода не только за счет непосредственного влияния на процессы сатурации и десатурации крови на уровне капилляра. Ухудшение пластичных свойств эритроцитов уменьшает кислородную емкость крови вследствие увеличения степени механического гемолиза в сосудах и разрушения эритроцитов в порах венозных синусов селезенки. Возросшая ригидность эритроцитов обуславливает увеличение вязкости крови, что требует роста энергозатрат сердца на обеспечение продвижения крови по сосудистому руслу. Ухудшение ДЭ при перегревании и пирогеналовой лихорадке, по-видимому, не имеет адаптивного значения и, вероятно, отражает несостоятельность защитно-приспособительных реакций системы транспорта кислорода. Отмечаемое ухудшение ДЭ ограничивает оптимальное функционирование системы транспорта кислорода на разных её уровнях: сердце, сосудистое русло, кислородтранспортная функция крови, и сдвигает прооксидантно-антиоксидантное состояние организма в сторону активации ПОЛ (рис. 35).

ДЭ участвует в формировании адекватного потока кислорода в ткани в соответствии с их потребностью в нем, а его ухуд-

шение содействует перераспределению использования кислорода с оксидазного пути на оксигеназный. Ухудшение данного параметра отражает нарушение процессов утилизации кислорода в организме. Возникает порочный круг: снижение ДЭ ухудшает транспорт кислорода в ткани, его полноценную утилизацию в тканях, это, в свою очередь, обуславливает еще более выраженное нарушение данного показателя красных клеток крови. Очевидно, ДЭ является не только важным фактором транспорта кислорода в ткани и обеспечения их потребности в нем, но и механизмом, влияющим на эффективность функционирования антиоксидантной защиты, и в конечном итоге – всей организации поддержания прооксидантно-антиоксидантного равновесия всего организма.

Эти изменения ДЭ не имеют адаптивного характера и отражают срыв компенсаторных возможностей механизмов системы транспорта кислорода. В условиях гипоксии изменения показателей кислородтранспортной функции крови, процессов ПОЛ и антиоксидантной системы коррелируют с ухудшением этого параметра, что позволяет рассматривать этот показатель как интегральный критерий не только тяжести нарушений кислородного обеспечения, но и прооксидантно-антиоксидантного состояния организма.

Данный показатель является одной из наиболее лабильных характеристик крови, который чувствительно реагирует на изменения практически любого метаболического процесса в эритроците, и в целом всего организма. ДЭ формирует кислородтранспортную функцию крови и обеспечивает достижение полезного приспособительного результата системы транспорта кислорода. Оценка данного показателя чрезвычайно важна для характеристики функционального состояния организма.

Ниже, в табл. 19, представлена активность некоторых эндогенных факторов, определяющих сдвиги ДЭ в физиологических условиях.

Накопленный экспериментальный материал о влиянии физиологических факторов на ДЭ требует детального клинического анализа в целях определения его значимости для прогноза возможных сдвигов ДЭ в клинических условиях.



Рисунок 35. – Вклад деформируемости эритроцитов на разных уровнях в процессы транспорта кислорода

В этом плане представляется необходимым использование следующих основных аналитических приемов:

- дифференцированная оценка сдвигов ДЭ в аналитических опытах *invitro* с учетом концентрации и длительности воздействия биогенных регуляторов;
 - сопоставление данных опытов *invitro* и *invivo* с учетом уровня ДЭ в контрольных сериях опытов и ее динамики;
 - использование в контрольных сериях *invitro* стандартной “условно здоровой” крови и исходное контрольное тестирование с помощью эталонного физиологического препарата.
- Таблица 19. – Физиологические факторы, влияющие на деформируемость эритроцитов

Активаторы ДЭ	Ингибиторы (стабилизаторы) ДЭ

АТФ	Гемоглобин (высокое содержание)
2,3-ДФГ	Аномальный гемоглобин
Спектрины (белки мембраны)	Кальций (внутриэритроцитарный)
Магний, цинк	CO ₂
Гепарин	pH (сдвиги от 7,4 в сторону алкалоза или ацидоза)
Адреналин (5x10 ⁻⁹ М)	Повышение СГК
Изадрин (10 ⁻⁴ М)	Лецитин
	Возраст
	Хранение крови
	Креатинин
	Физические нагрузки у спортсменов

Активаторы ДЭ: Конев С.В., 1987; MohandsN. et al., 1983; WaughR., 1986; BrantonD. et al., 1981; Dupuy-FonsC. et al., 1995; WangX. et al., 1999; TuviaS. et al., 1999.

Ингибиторы ДЭ: SoretteM. et al., 1987; MohandasN. et al., 1983; ChungiW. et al., 2001; BrodyJ. et al., 1995; MarkM. et al., 2000; MulhausenR. et al., 1963; CrandallE. et al., 1978; FriederichsT., MeiselmanH., 1994; StoltzJ. et al., 1987; AllenJ. et al., 1971; 7AllenJ. et al., 1971; SmithJ., 1983; ОсадчийП.В., СигалВ.Л., 1987; LipovacV. et al., 2000; Cazzola R. et al., 2003.

3.6 Сдвиги деформируемости эритроцитов при ИБС и некоторых других сопутствующих заболеваниях

Снижение ДЭ сопутствует развитию общей гипоксии, гипертермии, целого ряда заболеваний сердечно-сосудистой системы, диабета, патологии крови и других функциональных систем с весьма сложными причинно-следственными взаимосвязями [Чернух А.М. и др., 1984; Селезнев С.А. и др., 1985; Карпун Н.А., 1995; Зинчук В.В., 2001; BanerjeeR. et al., 1998; KamenevaM. et al., 1999; JaggerJ. et al., 2001; KeymelS. et al., 2011].

Исследование сдвигов ДЭ становится одной из центральных проблем в области фармакологической коррекции микроциркуляции в ишемизированных тканях (табл. 20). Увеличение достав-

ки кислорода в сфере мобилизуемых микрокапилляров с диаметром менее стандартных размеров эритроцита за счет повышения эластичности и сопряженной с ней проницаемости мембран эритроцита для O_2 уже сравнительно давно привлекает внимание исследователей в плане целенаправленного фармакотерапевтического воздействия на процессы микроциркуляции.

Следует, однако, признать, что в большинстве работ в этой области рассматриваются сдвиги ДЭ как частное проявление фармакологической активности, включенное в интегральные системные эффекты. Анализ удельного веса сдвигов ДЭ в формировании баланса кислорода в гипоксических тканях, к сожалению, следует пока отнести к задачам будущих исследований.

Исследование влияния на ДЭ антиишемических средств представляет особый интерес как в плане формирования терапевтического эффекта, так и в аспекте предупреждения возможных побочных эффектов, связанных со снижением ДЭ. Специально следует отметить использование в практике целого ряда косвенных методов оценки функционального статуса мембран эритроцитов (эритроцитометрия, определение осмотической резистентности и др.), которые дают полезную информацию аналитического плана [Сороковой В.И. и др., 1996; Пятницкий А.М. и др., 1997].

Так, у пациентов в постинфарктном периоде установлено достоверное повышение жесткости мембран эритроцитов [Ганелина И.Е. и др., 2000; Зарубина Е.Г. и др., 2002; Saldanha C. et al., 1999]. Снижение ДЭ у пациентов с острым ИМ рассматривается как ранний прогностический признак тяжести его течения [Виноградов А.В. и др., 1990]. Кроме того, снижение ДЭ у пациентов, перенесших острые коронарные синдромы, ассоциируется с учащением случаев синдрома отсутствия реперфузии после первичной коронарной ангиопластики [Wasilewski J. et al., 2007] и резистентности к аспирину [Mannini L. et al., 2006].

Таблица 20. – Сдвиги ДЭ при ИБС и сопутствующей патологии

Активация ДЭ	Торможение (стабилизация) ДЭ
ПОЛ (фазовый эффект)	Гипоксия
МДА	Ишемия миокарда
Простагландин E_1	Артериальная гипертензия
Гипертермия	Гиперхолестеринемия

	ПОЛ (фазовый эффект)
	Арахидоновая кислота
	Простагландин E ₂
	СОД, каталаза
	Курение
	Метеочувствительность (холодное время года у пациентов со стабильной стенокардией)

Активация ДЭ: Зинчук В.В., 2001; Datta-Roy A. et al., 1985; Kikugawa K. et al., 1984; Allen J. et al., 1971; Зинчук В.В., 2001.

Торможение ДЭ: Kikuchi Y. et al., 1994; Saldanha C. et al., 1999; Tsuda K. et al., 1988; Martinez M. et al., 1997; Buchwald H. et al., 2000; Watanabe H. et al., 1990; Guerra L. et al., 1996; Stoltz J. et al., 1987; Allen J. et al., 1971; Baskurt O., 1999; Begum A., Terao J., 2002; Левина Д.И. и др., 1991.

С другой стороны, у пациентов с документированным феноменом замедленного коронарного кровотока были выявлены не только повышение ДЭ, но и снижение их агрегации, что авторы расценили как позитивную адаптивную реакцию в данной ситуации [Yaylali Y. et al., 2013]. Снижение ДЭ отмечено также при ишемическом инсульте при отсутствии прямой корреляции с другими реологическими параметрами [Тужилова Е.Г., 1994; Zhang J. et al., 1991].

Анализ сдвигов ДЭ при АГ свидетельствует о нарастании снижения ДЭ с ее прогрессированием [Шабанов В.А. и др., 2001; Tsuda K. et al., 2001]. Аналитическими исследованиями было показано, что гидростатическое давление вызывает дегидратацию мембран эритроцитов и снижает ДЭ [Barshtein G. et al., 1997] с одновременным повышением SGK [Reeves R. et al., 1986]. При АГ отмечено также повышение уровня свободного внутриэритроцитарного кальция, увеличение отношения холестерина/фосфолипиды в мембране эритроцитов и снижение ДЭ [см. обзоры Лисовской И.Л. и др., 1999, 2004].

Снижение ДЭ рассматривается как постоянный спутник АГ, однако вопрос о причинно-следственных связях формирования этого феномена на разных стадиях АГ весьма сложен и является предметом многочисленных работ патофизиологов и гематологов [Лисовская И.Л., 2004]. Сдвиги ДЭ при ряде патологических состояний (табл.21), которые могут сопутствовать заболеваниям сердечно-сосудистой системы, представляет определенный

интерес для понимания интегральной картины в клинической практике.

Таблица 21. – Сдвиги ДЭ при некоторых патологических состояниях

Активация ДЭ	Торможение (стабилизация) ДЭ
Гипертермия	Сахарный диабет
Гиперинсулинемия	Цирроз печени
МДА	Преэклампсия
Простагландин E ₁	Радиопатология
ПОЛ(фазовый эффект)	Невесомость
	Алкоголизация
	Сепсис
	Ожоги
	Механическая травма
	Антитела к сиалогликопротеину и др. антигенам
	ПОЛ

Активация ДЭ: Зинчук В.В., 2001; Nash G. et al., 1985; Datta-Roy A. et al., 1985; Kikugawa K. et al., 1984; Allen J. et al., 1971; Зинчук В.В., 2001.

Торможение (стабилизация) ДЭ: Fuchita J. et al., 1999; Garnier M. et al., 1984; Shauf B. et al., 2002; Wen Z. et al., 2001; Schen X. et al., 1997; Marotta F. et al., 2001; Лисовская И.Л., 2004; Paulitschke M. et al., 1995; Aberkane H. et al., 2001.

Аналогичная ситуация характерна и для современного состояния попыток анализа механизма действия на ДЭ фармакологических средств как в условиях клиники, так и в эксперименте на животных. Определенную ясность в этот вопрос вносит лишь оценка прямого действия лекарственных веществ, устанавливаемого в аналитических опытах *invitro*.

Исследования в данной области носят фрагментарный характер, их концептуальная сторона находится в стадии становления [Зинчук В.В., 2001; Лисовская И.Л., 2004].

3.7 Влияние средств фармакотерапии ИБС на деформируемость эритроцитов

Данные о влиянии на ДЭ некоторых фармакологических средств, применяемых при ИБС, в схематической форме пред-

ставлены в табл.22. Эти материалы отражают общую тенденцию влияния на ДЭ в сравнительно узком диапазоне исследованных доз и концентраций, главным образом по данным экспериментов *invitro*.

Из средств фармакотерапии ИБС наиболее обстоятельно исследовано влияние на ДЭ блокаторов кальциевых каналов (верапамил и амлодипин) и антагонистов ангиотензиновой системы (эналаприл, лозартан). Результаты исследования сдвигов ДЭ фильтрационным методом под влиянием верапамила и амлодипина приведены в табл. 23.

Как следует из представленных данных, верапамил в концентрации 80 нг/ мл вызывает тенденцию к снижению ДЭ по тесту t_b/t_s при использовании суспензии эритроцитов с 1% гематокритом в изоосмолярном буфере.

В концентрации 400 нг/мл при 1% гематокрите верапамил уже существенно тормозит ДЭ, достоверно снижая фильтруемость суспензии эритроцитов по тесту t_b/t_s . Близкие результаты получены при исследовании верапамила в гораздо более высоких концентрациях в опытах с кальций-индуцированным снижением ДЭ [Sowemimo-Coker S. et al., 1985].

Исследование индекса эллиптичности эритроцитов при эктацитометрии также свидетельствует о некотором снижении ДЭ под воздействием верапамила (до $0,169 \pm 0,016$ при $0,188 \pm 0,016$ в контроле).

Амлодипин в концентрации 10 нг/мл не вызывал скольконибудь существенных сдвигов индекса ригидности и отношения t_b/t_s при исследовании суспензии эритроцитов со значением гематокрита 0,1% и 1%. Более высокая концентрация амлодипина (50 нг/мл) достоверно повышала ДЭ по тесту t_b/t_s при исследовании суспензии эритроцитов со значением гематокрита как 0,1%, так и 1,0% (табл. 24), а также при эктацитометрии по тесту индекса эллиптичности эритроцитов (повышение с $0,31 \pm 0,016$ в контроле до $0,39 \pm 0,003$).

Таблица 22. – Влияние средств фармакотерапии ИБС и НЭЛИ на ДЭ

Активаторы ДЭ	Ингибиторы (стабилизаторы) ДЭ
Блокаторы кальциевых каналов (липофильные)	Верапамил
Амлодипин	НЭЛИ

Лозартан	
Эналаприл	
Пентоксифиллин	
Нитропруссид	
Молсидомин	
Клопидогрел	
Реополиглукин	
Илопрост	
Кверцетин	
Фозиноприл	
Симвастатин	
Мелатонин (антиоксидантный эффект)	
Na ₂ S ₂ O ₅	
НЭЛИ	
Добезилат кальция	

Активаторы ДЭ: Mason R. et al., 2000; Slonim A., Cristal N., 1992; Гацупа С.В., 2004; Shand B., 2000; Dawson D. et al., 2002; Bozzo J. et al., 2000; Starzyk D. et al., 1999; Ciuffetti G. et al., 2001; Селезнев С.А. и др., 1985; Wang X. et al., 1999; Korbut R. et al., 2002; Begum A., Terao J., 2002; Muravyov A. et al., 2002; Yerer M. et al., 2002; Kuoukatay V. et al., 2002; Жибурт Е.Б. и др., 1998; Besirli K. et al., 2012

Ингибиторы (стабилизаторы) ДЭ: Sowemimo-Coker S. et al., 1985; Кожекин В.В. и др., 1999; Spodaryk K., 2001.

Особенности действия верапамила и амлодипина на СГК и ДЭ в значительной степени коррелируют с их сопутствующим тормозящим влиянием на некоторые показатели ПОЛ (накопление МДА, светосумма железоиндуцированной хемилюминесценции, активность СОД) как в опытах *invitro*, так и *invivo*.

Таблица 23. – Влияние амлодипина и верапамила на фильтруемость суспензии донорских эритроцитов в изоосмолярном буфере

Препарат	Серия опытов (конц., нг/мл)	$t_b/t_{s\ 280}$ (n)	
		Гематокрит суспензии 0,1%	Гематокрит суспензии 1,0%
Амлодипин	Контроль	0,914±0,008 (7)	0,748±0,017 (5)
	Опыт (10)	0,920±0,008 (9)	0,743±0,014 (8)
	Контроль	0,855±0,005 (6)	0,767±0,004 (7)
	Опыт (50)	0,911±0,009* (6)	0,788±0,005* (7)
Верапамил	Контроль	0,890±0,013 (6)	0,780±0,009 (7)
	Опыт (80)	0,905±0,012 (6)	0,720±0,027(7)
	Контроль	0,860±0,008 (12)	0,738±0,004 (12)
	Опыт (400)	0,874±0,010 (12)	0,619±0,037* (12)

Примечание: * - $p < 0,05$

Таблица 24. – Влияние верапамила и амлодипина на некоторые показатели ПОЛ донорской крови *invitro*

Серия опытов	Концентрация, нг/мл (n)	МДА, нмоль/г Нб		СОД, ЕД/г Нб	
		5 мин.	120 мин.	5 мин.	120 мин.
Контроль	- (10)	4,0±0,07	3,1±0,07	1281±33	1281±32
Верапамил	16,0 (10)	4,0±0,11	2,8±0,12	1281±24	931±45*
	80,0 (10)	6,0±0,11*	2,9±0,07	1276±54	1077±54*
Амлодипин	0,4 (10)	4,0±0,11	3,0±0,13	1282±32	1207±20
	2,0(10)	2,3±0,11*	2,4±0,12*	1284±26	404±64*

Примечание: * - достоверность различий с контролем ($p < 0,05$)

Верапамил в наблюдениях на волонтерах при использовании суспензии эритроцитов с низким (0,1%) гематокритом вызывал тенденцию к повышению ДЭ по тесту скорости фильтрации. Амлодипин в исследуемой дозе практически не влиял на регистрируемые параметры ДЭ. Однако интересно отметить, что при высоком исходном уровне u_{cr} амлодипин вызывал снижение этого параметра (табл.25).

Таблица 25. – Влияние амлодипина (5 мг) и верапамила (80 мг) на показатели фильтруемости эритроцитов в наблюдениях на волонтерах

Препарат	Группа наблюдений	t_b/t_{s280} , $M \pm m$			u_{cr} (мосм/кг), $M \pm m$		
		Средние данные	Контроль <0,85	Контроль >0,85	Средние данные	Контроль <192	Контроль >192
Верапамил	Исходные данные (n)	0,85±0,01 (9)	0,83±0,01 (5)	0,88±0,01 (4)	183±3 (9)	182±2 (7)	195±3 (2)
	Препарат	0,89±0,01 [#]	0,88±0,02	0,90±0,01	183±2	183±3	185±1
Амлодипин	Исходные данные (n)	0,83±0,02 (9)	0,78±0,03 (4)	0,86±0,01 (5)	198±4 (9)	185±2 (3)	204±3 (6)
	Препарат	0,83±0,02	0,84±0,04	0,83±0,03	193±3	186±4	197±4*

Примечание: * - $p < 0,05$; [#] - $0,05 < p < 0,1$ (по парному критерию Стьюдента)

Анализ представленных данных указывает на выраженную специфику действия амлодипина на SGK и ДЭ по сравнению с верапамилем, которая в определенной степени связана с особенностями химической структуры молекулы амлодипина, высокой степенью ее ионизации, его селективным связыванием с поверхностными локусами кальциевых каналов и рядом других особенностей биологической активности препарата [Mason R. et al., 2000] исследование которых представляется важным при целенаправленном поиске новых БКК.

Изучение влияния эналаприла и лозартана на ДЭ в аналитических экспериментах *invitro* и наблюдениях на волонтерах также представляется небезынтересным в целях уточнения роли сдвигов ДЭ в формировании лечебного действия этих препаратов при ИБС.

Результаты исследования влияния эналаприла и лозартана на ДЭ по тесту фильтруемости эритроцитов представлены в табл. 26.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что исследование ДЭ по тесту t_b/t_s при ресуспендировании эритроцитов в изоосмолярном буфере выявило разный эффект препаратов при использовании суспензий эритроцитов с гематокритом 0,1 и 1%. Высокие концентрации эналаприла и лозартана (50 и 250 нг/мл, соответственно) вызывают повышение ДЭ при более низком

(0,1%) гематокрите. При использовании суспензии эритроцитов с гематокритом 1% статистически значимых сдвигов ДЭ не отмечалось. Полученные данные свидетельствуют о разной чувствительности субпопуляций эритроцитов к препаратам, которая нивелируется при высоких значениях гематокрита.

Таблица 26. – Влияние эналаприла и лозартана на фильтруемость суспензии донорских эритроцитов в изоосмолярном буфере

Препарат	Серия наблюдений (конц., нг/мл)	t_b/t_s 280 (n)	
		Гематокрит суспензии 0,1%	Гематокрит суспензии 1,0%
Эналаприл	Контроль	0,857±0,005 (7)	0,768±0,003 (8)
	Опыт (2)	0,874±0,007 [#] (8)	0,710±0,030 [#] (7)
	Контроль	0,914±0,009 (7)	0,748±0,017 (5)
	Опыт (10)	0,879±0,015 [#] (9)	0,749±0,044 (5)
	Контроль	0,894±0,007 (5)	0,738±0,024 (5)
	Опыт (50)	0,930±0,001* (5)	0,756±0,008 (5)
Лозартан	Контроль	0,894±0,007 (5)	0,738±0,024 (5)
	Опыт (10)	0,878±0,006 (5)	0,760±0,008 (5)
	Контроль	0,914±0,009 (7)	0,748±0,017 (5)
	Опыт (50)	0,846±0,034 [#] (8)	0,692±0,025 (8)
	Контроль	0,855±0,005 (6)	0,765±0,004 (8)
	Опыт (250)	0,893±0,008* (11)	0,751±0,007 [#] (9)

Примечания: * - $p < 0,05$; [#] - $0,05 < p < 0,1$

В наблюдениях на волонтерах эналаприл и лозартан, как и БКК, не вызывали заметных сдвигов ДЭ (табл. 27) при взятии проб крови в период пика концентрации препаратов в плазме.

В этих наблюдениях не зарегистрировано практически никаких сдвигов средних величин данных параметров. Можно было лишь отметить регуляторное влияние эналаприла и лозартана – тенденцию к снижению $t_b/t_{s\text{и}ct}$ при их повышенном уровне и повышению – при низких величинах этих параметров.

ДЭ при использовании суспензии эритроцитов с гематокритом 0,1% практически не изменялась (табл. 28), однако при 15-минутной экспозиции НЭЛИ отмечено достоверное снижение ДЭ в опытах на суспензии эритроцитов с 1% гематокритом. В наблюдениях на волонтерах существенных сдвигов ДЭ не установлено (табл. 29).

Таблица 27. – Влияние эналаприла (10 мг) и лозартана (80 мг) на показатели фильтруемости эритроцитов в наблюдениях на волонтерах (гематокритсуспензии эритроцитов 0,1%)

Препарат	Группа наблюдений	$t_b/t_{s280}, M \pm m$			$u_{cr}(\text{мосм/кг}), M \pm m$		
		Средние данные	Контроль <0,85	Контроль >0,85	Средние данные	Контроль <192	Контроль >192
Эналаприл	Исходно (n)	0,87±0,01 (9)	0,84±0,01 (2)	0,88±0,01 (7)	191±2 (9)	185±1 (5)	199±3 (4)
	Препарат	0,86±0,02	0,84±0,11	0,87±0,01	189±3	189±3	190±5*
Лозартан	Исходно (n)	0,84±0,02 (10)	0,80±0,02 (6)	0,90±0,02 (4)	190±5 (10)	180±2 (6)	206±5 (4)
	Препарат	0,84±0,02	0,82±0,02	0,87±0,02	190±4	184±4	198±5 [#]

Примечание: * - $p < 0,05$; [#] - $0,05 < p < 0,1$ (по парному критерию Стьюдента)

Таблица 28. – Влияние НЭЛИ на фильтруемость суспензии донорских эритроцитов в изоосмолярном буфере

Продолжительность сеанса, мин.	Серии опытов	$t_b/t_{s280} (n)$	
		Гематокрит суспензии 0,1%	Гематокрит суспензии 1,0%
2	Контроль	0,886±0,006 (5)	0,785±0,0169 (6)
	Опыт	0,890±0,0063 (6)	0,748±0,028 (6)
15	Контроль	0,907±0,007 (11)	0,752±0,010 (9)
	Опыт	0,891±0,005 [#] (11)	0,665±0,011* (11)

Примечания: * - $p < 0,05$; [#] - $0,05 < p < 0,1$

Таблица 29. – Влияние НЭЛИ на показатели фильтруемости эритроцитов в наблюдениях на волонтерах

Группа наблюдений	$t_b/t_{s280}, M \pm m$			$u_{cr}(\text{мосм/кг}), M \pm m$		
	Средние данные	Контроль <0,85	Контроль >0,85	Средние данные	Контроль <192	Контроль >192
Исходные данные (n)	0,86±0,02 (8)	0,76±0,02 (2)	0,89±0,01 (6)	193±4 (8)	183±3 (4)	202±2 (4)
После НЭЛИ	0,84±0,03	0,72±0,04	0,88±0,01	190±5	188±4	192±9

Использование НЭЛИ в системе терапии ИБС, а также данные о снижении ДЭ при остром ИМ и атеросклерозе [Захаров С.Д. и др., 2000; Леонтьева Н.В., 2000 и др.] определяют необхо-

димостью учета влияния НЭЛИ на ДЭ. В этом же плане представляет интерес проведение анализа взаимосвязи сдвигов СГК и ДЭ с сопутствующими изменениями ряда показателей ПОЛ в экспериментах на животных с экспериментальным ИМ и в наблюдениях на волонтерах.

Тем не менее, следует отметить, что ни у кого из добровольцев независимо от исходного уровня фильтруемости эритроцитов не наблюдалось ее повышения после сеанса НЭЛИ – соотношение t_b/t_{s280} оставалось на прежнем уровне либо снижалось.

Аналогичная ситуация характерна и для современного состояния попыток анализа механизма действия на ДЭ фармакологических средств как в условиях клиники, так и в эксперименте на животных. Определенную ясность в этот вопрос вносит лишь оценка прямого действия лекарственных веществ, устанавливаемого в аналитических опытах *invitro*.

Ниже на рис.40 схематически представлены основные факторы, определяющие сдвиги ДЭ и сопряженные с ними изменения микроциркуляции и трансмембранной диффузии кислорода.

Анализ результатов исследования активности ряда других фармакологических средств как модуляторов ДЭ (табл. 30) также указывает на необходимость учета сдвигов ДЭ при оценке динамики гемомикроциркуляции и целесообразность проведения дальнейших клинко-фармакологических исследований в этом направлении.

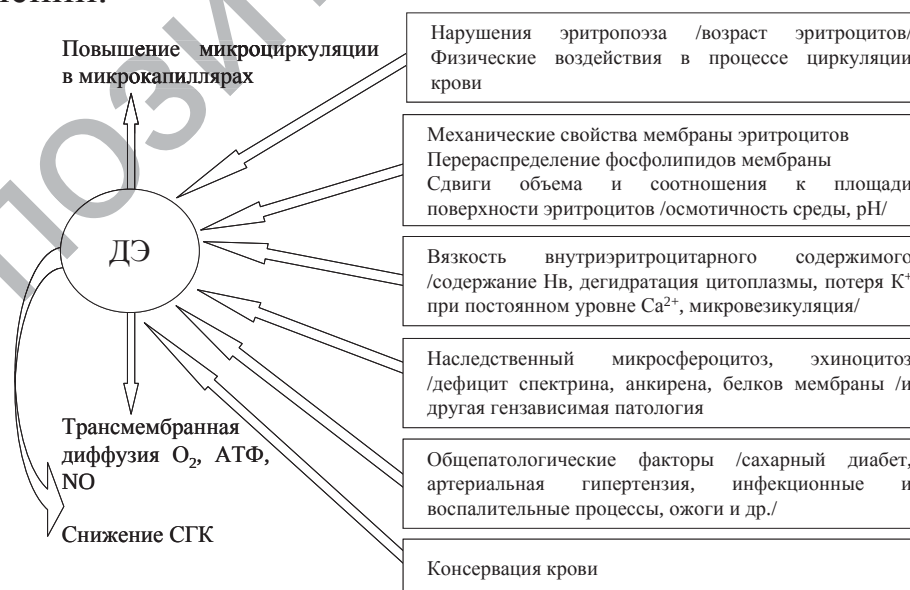


Рисунок 40. – Основные факторы, влияющие на деформируемость эритроцитов (ДЭ)

Таблица 30. – Влияние на ДЭ некоторых средств комплексной фармакотерапии сердечно-сосудистых заболеваний

Активаторы ДЭ	Ингибиторы (стабилизаторы) ДЭ
Аспирин	Гипотиазид
Аминазин	Морфин
Тиопентал натрия	Новокаин
Галотан	Тетракаин
Солкосерил	
Ацетилхолин	

Активаторы ДЭ: Bilo Y., 1999; Bozzo J. et al., 2001; Enomoto A. et al., 2001; Bazzoni G. et al., 1988; Yesilkaya A. et al., 1998; Wang X. et al., 1999; Mesquita R. et al., 2001.

Ингибиторы ДЭ: Khder Y. et al., 1998; Nie X. et al., 2000; Ramakrishnan S. et al., 1999; Bazzoni G. et al., 2001

Наряду с прямыми методами исследования ДЭ определенный интерес представляют исследования эритроцитарных мембран с использованием сульфацилового [Смирнова А.В., Рудакова И.С., 1962] и флуоресцеинового [Певзнер В.И., Григорович Е.А., 1969] тестов. В этом же плане заслуживают внимания и данные эритроцитометрии, характеризующие состояние мембран эритроцитов. Помимо регистрации размеров диаметра эритроцитов, существенный интерес представляет уровень содержания эллиптоцитов, эхиноцитов, стоматоцитов и эритроцитов с первичным нарушением липидного компонента мембран [Нижарадзе И.Ш., 1984; Пятницкий А.М., 1997, 2004].

Использование эритрограмм, полученных с помощью электронной микроскопии, уже давно рассматривается как достаточно чувствительный и информативный метод диагностики и отслеживания динамики патологических процессов. Представляется весьма интересным выяснение взаимосвязи эритроцитометрических данных с уровнем ДЭ и СГК при определенных сдвигах морфоэритрограммы.

ГЛАВА 4.

ВЗАИМОСВЯЗЬ СДВИГОВ СРОДСТВА ГЕМОГЛОБИНА К КИСЛОРОДУ И ДЕФОРМИРУЕМОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ СДИНАМИКОЙ ПОЛ ПРИ ИБС

Фармакологическая коррекция кислородтранспортной функции крови в ряде работ последнего времени рассматривается в тесной связи с уровнем ПОЛ в гипоксических и ишемизированных тканях [Борисюк М.В. и др., 1993, 1994; Зинчук В.В., Борисюк М.В., 1999; Зинчук В.В., 2003] и влиянием средств фармакотерапии на параметры ПОЛ и антиоксидантный статус пациентов [Галенко-Ярошевский П.А., Гацура В.В., 2000].

Известно, что ПОЛ на начальных этапах патологического процесса является одной из ведущих систем поддержания гомеостаза гипоксических клеток, обеспечивая целый комплекс адаптационных и компенсаторных реакций (рис.41).

С этих позиций учет фазы патологического процесса и интенсивности сопутствующего ПОЛ является необходимым условием рационального применения средств, имеющих как прямое, так и косвенное антиоксидантное действие. В последнее десятилетие лавинообразно увеличивается число работ, посвященных изучению роли ПОЛ в генезе кислородзависимой патологии и лечебного эффекта антиоксидантов. В экспериментальной кардиологии эта тенденция стимулировалась также необходимостью фармакопрофилактики синдрома реперфузии миокарда, с которым нередко сталкиваются кардиохирурги.

4.1 Вклад транспорта кислорода кровью в формировании прооксидантно-антиоксидантного состояния организма

Свободные радикалы необходимы для синтеза простагландинов, тромбоксанов и лейкотриенов; клеточного фагоцитоза; модуляции апоптоза; предупреждения злокачественной трансформации клеток; ротации липидного компонента биологических мембран; утилизации трудно окисляемых соединений; выполнения функции внутриклеточного мессенджера; регуляции метаболических процессов, проницаемости биологических мембран.

ложились парадоксальная ситуация: общепризнана ключевую роль свободных радикалов в физиологических и патологических процессах, протекающих в организме человека, однако клинический опыт коррекции патологических состояний, сопровождающихся активацией ПОЛ, представляется весьма скромным [Трегубова И.А. и др., 2012].



Рисунок 41. – Основные детерминанты иницирования ПОЛ и его главные биологические эффекты

1 – BorisiukM., ZinchukV.,1998; 2 – Зинчук В.В.,1993; 3 – Зинчук В.В. и др.,1996; 4 – Маянский А.Н. и др.,1983; 5 – Биленко М.В., 1985; 6 – Козлов Ю.П. и др.,1983; 7 – Тимочко М.Ф. и др.,1996; 8 – Кудрин А.Н. и др.,1988; 9 – Лю Б.Н. и др.,1976; 10 – Хачатурьян М.Л. и др.,1996; 11 – DasD. etal.,1999; TangX. etal.,2002; 12 – HarrisE., 1992

Оптимизация процессов транспорта кислорода в организме диктует необходимость исследования проблемы транспорта кислорода не только с позиций удовлетворения потребностей энергообмена в акцепторе электронов. Не менее важным, как это следует из приведенных нами фактов, является исследование систе-

мы транспорта кислорода как физиологического механизма антиоксидантной защиты. Причем изучению в этом плане подлежит не только ее гемический компонент, а весь комплекс свойств кардиоваскулярного аппарата и крови и их регуляторных надстроек, задающих поток кислорода в ткани. При целом ряде состояний установлено, что при повышении pO_2 в крови активируется комплекс оксигеназных реакций, что приводит к увеличению образования продуктов ПОЛ, которые способны снизить эффективность потребления кислорода по оксидазному пути. Несомненно, что при увеличении потока кислорода в ткани из-за повышенного pO_2 в притекающей крови мощность клеточных ферментных систем антиоксидантной защиты может оказаться недостаточной для стабилизации соотношения разных путей использования кислорода. Структурно-функциональные особенности организации системы транспорта кислорода обеспечивают постепенное снижение pO_2 во вдыхаемом воздухе до уровней потребностей клетки в O_2 через ряд каскадов, которое следует рассматривать не только как результат неизбежной транспортной потери, но и как итог совершенства регуляции безопасного и необходимого уровня снабжения клетки кислородом.

Важными условиями, определяющими протекание процессов ПОЛ в организме, являются наличие субстрата и достаточное количество кислорода. Последний необходим для образования активных форм кислорода, прежде всего инициации ПОЛ, а также реакций продолжения и разветвления цепей. Скорость одноэлектронного восстановления O_2 почти линейно повышается с ростом его концентрации (рис.42) в диапазоне от 10^{-6} до 10^{-4} моль [Boveris A., Chance B., 1973], где в зависимости от величины O_2 выделяют три области: А – соответствует малому насыщению оксидазы кислородом; В – полному насыщению оксидазы; С – образованию продуктов одноэлектронного восстановления O_2

Абсолютные значения скорости поглощения кислорода для ферментативного использования кислорода почти на два порядка выше, чем для неферментативного, ведущего к образованию O_2^- . Как аргументированно показал В.П. Скулачев [1995], в митохондриях возможна такая ситуация, когда резко повышается вероятность одноэлектронного восстановления кислорода в связи со снижением концентрации АДФ (основного субстрата фосфори-

лирующего дыхания), обусловленное снижением скорости потребления кислорода и ростом его концентрации в клетке; величением таких субстратов, как восстановленные флавины, негемовые железопротеиды; изменением качественных характеристик элементов дыхательной цепи.

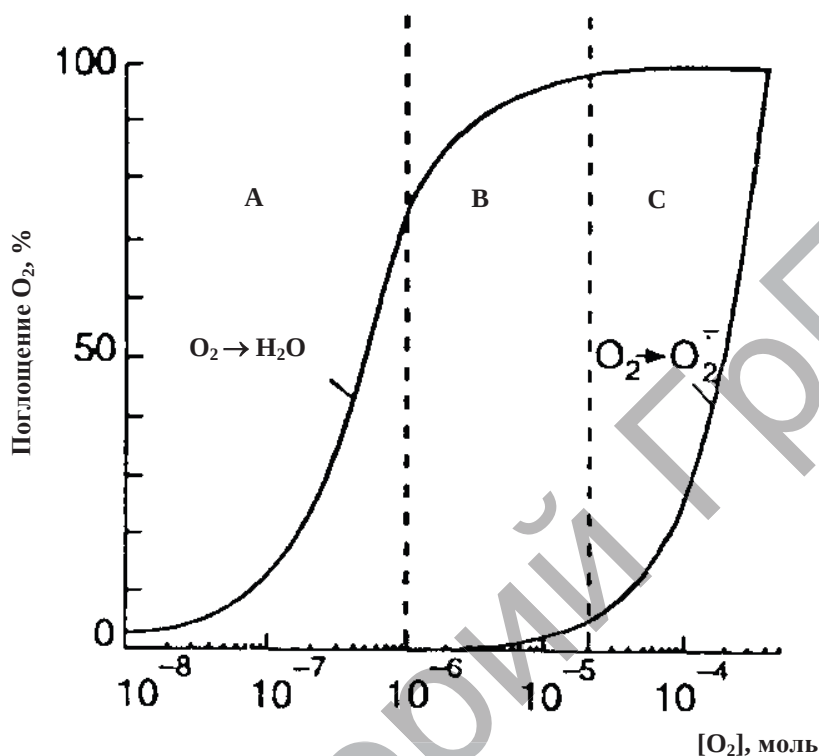


Рисунок 42. – Четырехэлектронное и одноэлектронное восстановление кислорода в зависимости от его концентрации [Boveris A., Chance B., 1973]

Показано, что в клетках эндотелия скорость высвобождения H_2O_2 при увеличении содержания кислорода в атмосфере от 0 до 10% возрастает в три раза, а далее существенно не изменяется [Kinnula V.L. et al., 1993]. Интенсивность процессов ПОЛ в микросомах при инкубации тканей возрастает с ростом содержания кислорода от 3 до 20% [Puntarulo S., Cederbaum A.I., 1988]. Продукция перекиси водорода в печени крыс увеличивается с ростом тканевого pO_2 на 60-100% [Chance B. et al., 1979]. В микросомах, полученных после длительной реперфузии органа, отмечается повышение уровня МДА, коррелирующее с высоким уровнем потребления O_2 и выработкой O_2^- [Campos R. et al., 1990]. Повышение потребления кислорода в 2-2,5 раза у наземной улитки сопровождалось ростом уровня продуктов ПОЛ, реа-

гирующих с тиобарбитуровой кислотой [Hermes-Lima M., Storey K.B., 1995]. У испытуемых в условиях гипобарической гипероксии отмечался рост pO_2 и содержание водорастворимых продуктов ПОЛ в крови [Ланышина О.Е. и др., 1992]. Известно зависимое от содержания кислорода влияние "артериальной" и "венозной" газовых смесей (т.е. сходных по составу с артериальной и венозной кровью) на активность генерации O_2^- в биоптатах органов *in vitro* и при воздействии на целостный организм [Коган А.Х. и др., 1996]. Повышенное содержание O_2 в газовой смеси вентилируемого изолированного легкого в постишемический период усиливает повреждение тканей по свободнорадикальному механизму [Fisher A.B. et al., 1991]. Снижение содержания кислорода во вдыхаемом воздухе при реперфузии прямо коррелирует с уровнем продуктов ПОЛ в легочной ткани [Eckenhoff R.G. et al., 1992]. Гипобарическая гипоксия с последующей реоксигенацией со 100% содержанием кислорода у взрослых крыс сопровождается повышением генерации МДА в структурах мозга в сравнении с реоксигенацией в атмосферном воздухе [Koudelova J., Mourek J., 1994].

Установлен достаточно парадоксальный факт: реперфузия ишемизированных органов растворами со сниженным pO_2 имеет выраженный защитный эффект [Биленко М.В., 1978]. В постишемический период чувствительность органов к физиологическому или избыточному содержанию O_2 повышена, отмечается активация ПОЛ, несколько снижающаяся при введении различных антиоксидантов [Демуров Е.А., Игнатова В.А., 1985]. Избыточное содержание кислорода в тканях на раннем реперфузионном периоде приводит к развитию феномена "no-reflow" (неполного восстановления органного кровотока). У животных ингаляция газовой смесью, обогащенной кислородом, усиливает в ишемизированных органах процессы ПОЛ, в то время как гипоксическая газовая смесь снижает их активность [Биленко М.В., 1989]. Ступенчатая постишемическая реоксигенация у кроликов значительно снижает продукцию ПОЛ и оказывает выраженное нейротекторное действие в ранний и отдаленный периоды [Fercakova A. et al., 1992].

Высокий уровень pO_2 в условиях контролируемой реоксигенации сердца инициирует в миокарде у кроликов лавинообраз-

ный рост образования свободных радикалов и приводит к снижению емкости антиоксидантного резерва [Ihnken K. et al., 1995]. Неконтролируемая реактивация окислительной функции митохондрий при реоксигенации усиливает синтез свободных кислородных радикалов и активирует процессы ПОЛ в сердце, ведя к необратимому повреждению мембранных структур клетки [Gauduel Y. et al., 1989]. Реперфузия миокарда в условиях гипотермии раствором с высоким pO_2 является нежелательной из-за снижения активности антиоксидантной системы (показатели хемилюминесценции практически не отличаются от исходных при артериальном pO_2 не более 300 мм рт. ст. и значительно возрастают при его больших значениях) [Дементьева И.И. и др., 1990]. Артериальная гипероксемия при искусственном кровообращении увеличивает интенсивность свободнорадикального окисления [Мещеряков А.В. и др. 1990]. В ряде случаев гиперреакция физиологических систем адаптации к гипоксии обуславливает избыточную кислородную нагрузку на клетку и, соответственно, ее окислительное повреждение вследствие недостаточной адаптированности внутриклеточных противокислородных систем [Герасимов А.М. и др., 1998].

Анализируя кислородзависимый характер свободнорадикального окисления, целесообразно упомянуть о возможности изменения радиорезистентности клеток при различных кислородных режимах. В настоящее время известно существование "кислородного эффекта", в основе которого лежат особенности физико-химического взаимодействия облучаемых компонентов клетки со свободным кислородом (реакция радиолитической воды), проявляющегося в значительном повышении радиочувствительности различных клеток млекопитающих при переходе их от гипоксии к состоянию с более высоким содержанием кислорода [Ярмоненко С.П. и др., 1980]. Эта зависимость носит экспоненциальный характер и максимальное значение коэффициента кислородного усиления лежит примерно в диапазоне 2,5-4. Содержание кислорода в тканях имеет существенное значение для проявления защитного действия радиопротекторов и эффективности антирадиационной терапии. Длительное пребывание в условиях гипоксической гипоксии вызывает у животных адаптивные изменения и стимулирует процессы восстановления об-

лученного рентгеновскими лучами организма [Барабой В.А. и др., 1994].

Необходимо отметить, что антиоксидантная система не полностью подавляет процессы ПОЛ, а лишь ограничивает их чрезмерную активацию. Более того, угнетение процессов образования активных форм кислорода, в частности при нарушениях мозгового кровоснабжения в эксперименте, может оказывать и неблагоприятное влияние [Болдырев А.А., 1995]. Многостадийность процессов ПОЛ предполагает многоуровневую мультисистемную организацию их регуляции [Борисюк М.В., 1996]. Несмотря на очевидную перспективу антиоксидантной терапии до настоящего времени опыт клинического применения антиоксидантов остается невыразительным, что сопряжено с отсутствием четких критериев назначения антиоксидантных средств; неясно, стандартов в методах оценки состояния ПОЛ (антиоксиданты назначают практически вслепую, что не позволяет достичь баланса между антиоксидантным, прооксидантным и оксидантным действием, общепринятых определений, позволяющих четко регламентировать принадлежность лекарственных препаратов к группе антиоксидантов [Трегубова И.А. и др., 2012].

Предложены разные классификации механизмов антиоксидантной защиты. Согласно существующим представлениям, основой для обеспечения антиоксидантной защиты в организме являются высокая степень упорядоченности и структурированности ферментативных систем мембраны, утилизирующих кислород как универсальный акцептор электрона; относительно низкое значение pO_2 в тканях; наличие биоантиоксидантов [Журавлев А.И., 1975]. Согласно Герасимову А.М. и др. [1998], существуют следующие механизмы антиоксидантной защиты на клеточном уровне: антиоксидантные ферменты (ингибирующие инициацию ПОЛ и предотвращающие окислительную деструкцию); низкомолекулярные антиоксиданты; ферменты, утилизирующие конечные продукты ПОЛ; факторы восстановления поврежденных молекул; регуляторы внутриклеточного метаболизма (циклические нуклеотиды, простагландины, лейкотриены), а также пространственной координации внутриклеточных кислородтранспортных процессов и метаболизма активированных форм кислорода. Ряд авторов выделяют трехступенчатый уровень ор-

ганизации системы антиоксидантной протекции: антикислородный, антирадикальный, антиперекисный (рис.43) [Лю Б.Н., Ефимов М.Л., 1976; Каган В.Е. и др., 1986; Литвицкий П.Ф., Грачев С.В., 1997]. Показано, что ведущую роль в системе антиоксидантной защиты клеток играют факторы ферментативной, а также неферментативной природы.

Среди различных компонентов антиоксидантной системы различают непосредственно ингибиторы активизированных кислородных метаболитов (т.е. вещества, ассоциирующие с иницируемыми и образующимися радикалами и таким образом прерывающие цепные реакции ПОЛ) и факторы, предупреждающие их образование (основанные на изменении структурной организации окисляемого субстрата, снижении концентрации кислорода, связывании ионов металлов, перевод перекисей в стабильные продукты окисления) [Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., 1993]. Следует особо подчеркнуть, что во всех этих предлагаемых подходах к пониманию структурно-функциональной организации антиоксидантной системы важная роль отводится поддержанию некоторого оптимального уровня pO_2 в клетках.

Изложенные данные о кислородзависимой природе процессов ПОЛ предполагает сложную многоуровневую систему их регуляции, в которой системные механизмы, возможно, преобладают над внутриклеточными. Хотя антиоксиданты чрезвычайно важны, но они не могут всецело предотвратить окислительное повреждение. Скулачев В.П. [1995] указывает, что существующие механизмы антиоксидантной защиты в ряде случаев "не предотвращают зло, а лишь борются с его последствиями", в связи с чем "снижение внутриклеточной концентрации кислорода могло бы стать более кардинальным решением проблемы кислородной опасности". Пространственную организацию метаболизма активных форм кислорода, соответствующую тонкую структурированность клеточного матрикса, структурную упорядоченность цитозольных ферментов антиоксидантной защиты можно считать ведущим принципом надежности системы противокислородной защиты клетки, но и её рассмотрение невозможно без системного анализа, предусматривающего разделение объекта исследования на разные уровни и подуровни.

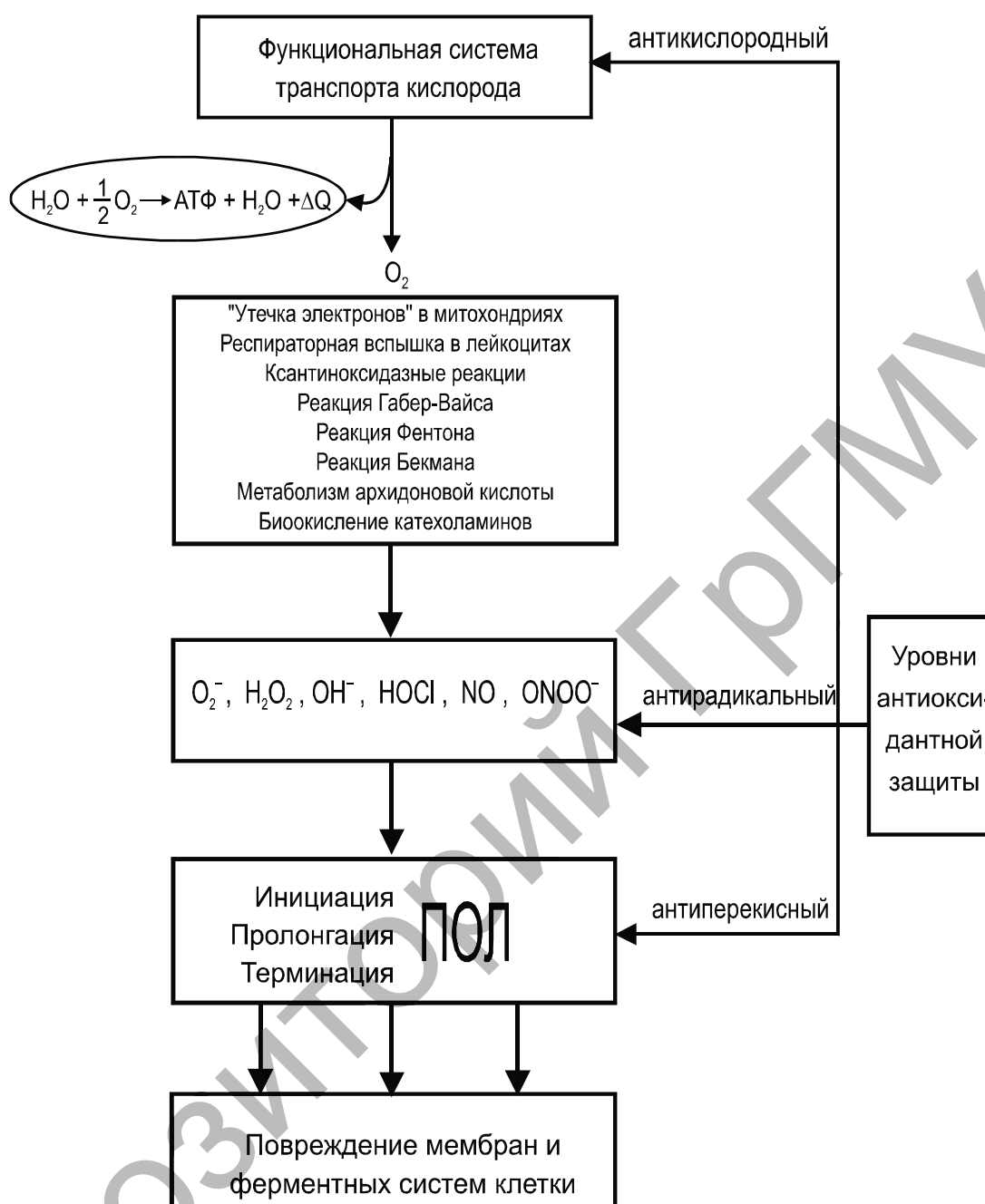


Рисунок 43.—Основные уровни организации системы антиоксидантной защиты в организме
[Зинчук В.В., Борисюк М.В., 1999]

Существует равновесие между интенсивностью генерации активных форм кислорода и мощностью системы антиоксидантной протекции, которая инактивирует образующиеся свободные радикалы и минимизируют неблагоприятные последствия их действия. Их обезвреживание, инактивация осуществляется разными ферментативными и неферментативными факторами сис-

темы антиоксидантной защиты (СОД, каталаза, GSH-пероксидаза, витамин Е и др.). Защитный эффект антиоксидантов заключается в непосредственном взаимодействии с супероксиданионом, гидроксилрадикалом и другими и последующей их нейтрализации либо в тушении их опосредованных эффектов [Болдырев А. А. и др., 1995]. Повреждающее действие свободных радикалов необходимо анализировать не только с учетом интенсивности их образования, но и активности различных компонентов антиоксидантной системы. Степень защиты организма от свободных радикалов существенно зависит от уровня данной активности [Michiels C. et al., 1994]. Повреждение тканей может быть как следствием увеличенного образования свободных радикалов, так и снижения уровня антиоксидантной защиты.

Организм при окислительном стрессе имеет сложную иерархию защитных механизмов в разных клеточных компартментах, функционирование которых регулируется на уровне генов с участием теплошоковых и окислительно-стрессовых белков [Gutteridge J.M.C., 1995]. Полноценность антиоксидантной системы обеспечивается определенной её внутриклеточной организацией, в частности пероксисомами, для которых характерно наличие специфических метаболических путей, протекающих с участием значительной доли потребляемого кислорода и образованием активных форм кислорода [Kremser K. et al., 1995]. Рядом исследователей показано, что культивирование клеточных линий мышей и человека в средах с различными pO_2 сопровождается изменением их чувствительности к перекиси водорода, т.е. возможно индуцирование генотипа клеток путем изменения pO_2 в среде культивирования [Lawrence D.A. et al., 1996]. Согласно гипотезе В.П. Скулачева [1995], "мягкое" разобщение окислительного фосфорилирования в митохондриях может регулировать внутриклеточное содержание кислорода и тем самым предотвращать одноэлектронное восстановление кислорода.

Системный подход в оценке адаптивных реакций организма на гипоксическое воздействие позволил определить, что гипоксия оказывает влияние на функцию разных систем, а также изменяет реактивность этих систем на другие воздействия [Донина Ж.А., 2011]. Основные адаптивные стратегии при гипоксии направлены на поддержание энергообеспечения организма, то

есть синтез АТФ, на необходимом уровне; снижение потребности организма в энергии, то есть уменьшение активности и уровня метаболизма; использование анаэробных процессов синтеза АТФ [Кривошеков С.Г., 2012]. При гипоксии в клетке происходит активация целого ряда сигнальных путей, универсальных и специфических, которые могут быть взаимосвязаны и взаимозависимы, что и определяет итоговый ответ клетки на гипоксию в каждый конкретный период [Анохина Е.Б., Буравкова Л.Б., 2010].

Адаптация к периодической гипоксии эффективно предупреждает активацию ПОЛ и опосредованного им повреждения, но не за счет увеличения мощности антиоксидантной системы, которая в ряде случаев не может компенсировать чрезмерную активность свободнорадикальных процессов [Архипенко Ю.В., Сазонтова Т.Г., 1996]. Сопоставление показателей ПОЛ у крыс, характеризующихся разной устойчивостью к гипоксии, выявило более высокое содержание диеновых и кетотриеновых конъюгатов в сердечной ткани у высокоустойчивых животных, чем у низкоустойчивых [Хачатурьян М.Л. и др., 1996]. Показано, что СОД в больших дозах не обладает способностью защищать ишемически поврежденное изолированное сердце и, более того, даже усиливает степень его повреждения [McCord J.M., 1995]. Установлена тесная взаимосвязь между активностью антиоксидантных ферментов эритроцитов и гипоксической вазоконстрикцией в легких [Yamaguchi K. et al., 1996]. В клинической практике выявлено, что в терапии ИМ применение антиоксидантов далеко не всегда оправдано [Schoenberg M.H., Beger H.G., 1995]. В ряде исследований был показан слабый защитный эффект антиоксидантов при острой гипоксии мозга [Urbanics R., Kovach A.G.B., 1989]. У трансгенных животных с чрезмерной экспрессией Cu, Zn-СОД не отмечалось повышения устойчивости нейронов к перманентной очаговой ишемии в сравнении с нетрансгенными [Chan P.H., 1994]. Выявлено, что "нулевые мутанты" с отсутствием гена, ответственного за экспрессию внеклеточной СОД, в обычных условиях нормально развиваются и лишь в условиях выраженного стресса погибают, поскольку другие антиоксидантные механизмы не могут обеспечить адекватную защиту организма [Carlsson L.M. et al., 1995].

В то же время установлено, что в тканях аскарид, существующих в условиях крайне низкого содержания кислорода, активность СОД, каталазы и глутатионпероксидазы, практически не отличается от таковых у белой крысы [Герасимов А.М. и др., 1979], т.е. активность антиоксидантных ферментов в тканях этой нематоды не соответствует содержанию кислорода в среде обитания, что может иметь физиологическое значение лишь в экстремальных условиях [Деленян Н.В., Герасимов А.М., 1996]. Попытка усилить антиоксидантную защиту с помощью гипобарической гипоксии приводила к значительному повышению активности таких ферментов, как СОД и каталаза (более чем в два раза), которая однако сопровождалась не снижением уровня ПОЛ, а, наоборот, существенным его ростом [Архипенко Ю.В., Сазонтова Т.Г., 1996]. Несмотря на отсутствие митохондрий в эритроцитах, в них непрерывно идет продукция активных форм кислорода вследствие высокого напряжения кислорода в артериальной крови и содержащегося в эритроцитах железа [Новожилов А.В. и др., 2013].

В организме существует комплекс физиологических механизмов, обеспечивающих его защиту от избыточного поступления O_2 в ткани, значение которого особо важно при недостатке ферментативных и неферментативных антиоксидантов. В условиях избытка кислорода в организме происходит ряд физиологических реакций, носящих приспособительный характер и направленных на уменьшение доставки кислорода в ткани: уменьшение минутного объема и частоты дыхания, замедление кровотока, сужение сосудов, снижение объема циркулирующей крови и т.д. [Жиронкин А.Г., 1972]. При гипербарических условиях таким защитным механизмом против чрезмерного образования активных форм кислорода является кратковременная вазоконстрикция [Torbati D. et al., 1993]. Наличие артериоловеноулярного шунта (проницаемости стенок артериол и венул для кислорода и возможности его сброса обратно в венозную кровь по градиенту концентрации) [Duling B.R., 1978] можно рассматривать как своеобразный механизм защиты тканей от чрезмерно больших количеств кислорода, поступающего из микроциркуляторной сети [Иванов К.П., 1993].

Необходимо также отметить, что важным в регуляции свободнорадикальных процессов являются также структурно-функциональные особенности дыхательной и кровеносной систем [Герасимов А.М., Деленян Н.В., 1996], обеспечивающие постепенное снижение pO_2 во вдыхаемом воздухе до уровней потребностей клетки в O_2 через ряд каскадов [Коваленко Е.А., Черняков И.Н., 1972]. Кислородный каскад можно рассматривать не только как результат неизбежной транспортной потери, но и как итог совершенства регуляции безопасного и необходимого уровня снабжения клетки кислородом [Герасимов А.М. и др., 1998]. Высказано предположение, что коррекция свободнорадикальных процессов на уровне микроциркуляции наряду с прямым воздействием антиоксидантов может быть одним из эффективных способов защиты от окислительного стресса [Калуев А.В., 1996]. Изложенные факты свидетельствуют о необходимости рассмотрения организации прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма не только на основе традиционных представлений, но и с участием системных физиологических механизмов, в частности вклада системы транспорта кислорода.

Известно, 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. С повышением СГК уменьшается скорость аутоокисления оксигемоглобина в метгемоглобин и, наоборот, уменьшение сродства способствует образованию метформы [Stepuro I. et al., 1994]. В то же время гемоглобин может проявлять и прооксидантное действие – путем образования гидроксильных радикалов. Показано, что оксигемоглобин оказывает прооксидантный эффект в культурах эндотелиальных клеток, причем при H_2O_2 -индуцированном окислении его в метформу [Balla J. et al., 1993]. Инкубация оксигемоглобина с H_2O_2 в присутствии диметилсульфоксида сопровождается превращением последнего в формальдегид и увеличением образования свободных радикалов, однако с повышением СГК уменьшается генерация супероксидного аниона и в конечном итоге – накопление конечного продукта [Alayash A.I. et al., 1992].

Активность процессов ПОЛ в эритроцитарной массе, ини-

цированная гидроперекисью третбутила, зависит от состояния гемоглобина, так как в содержащих метгемоглобин эритроцитах образование МДА и интенсивность хемилюминесценции значимо выше, чем в клетках, содержащих оксигемоглобин [Lissi E. et al., 1986].

Степень инаktivации эритроцитарной глутатионпероксидазы коррелирует со скоростью окисления оксигемоглобина и во многом зависит от формирования гемихрома, а низкая активность каталазы соответствует более высокой концентрации метгемоглобина. Скорость окисления глутатиона нитритом натрия в присутствии оксигемоглобина снижается, и только после перехода значительной части оксигемоглобина в метформу наблюдается прирост концентрации окисленного глутатиона [Balla J. et al., 1993]. Гемоглобин, обладая пероксидазными свойствами, участвует в окислении липопротеидов низкой плотности. Показано, что активной формой, вызывающей свободнорадикальные процессы в эритроцитах и ковалентное перекрестное сшивание мембранных белков, является глобиновый радикал, образующийся при окислении метформы гемоглобина [Miller Y. I. et al., 1997].

При развитии стресс-реакции система крови является не только посредником между гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системой и тканями организма, но и одной из первых тканей организма, которая подвергается окислительному стрессу из-за непосредственного контакта с кислородом [Новожилов А.В. и др., 2013]. Существует определенная связь между SGK и процессами его аутоокисления и окислительной модификации. Гемоглобин выступает в роли редокс-активного соединения, существует псевдопероксидазный каталитический цикл, возникающий между Fe^{3+} и Fe^{4+} при поглощении гемоглобином H_2O_2 [Alayash A. I., 1999]. Изменения уровня показателей окислительного стресса и активности антиоксидантных ферментов в эритроците можно объяснить изменением соотношения в крови старых и молодых эритроцитов (выброс в циркуляцию старых эритроцитов из депо крови вызывает снижение активности антиоксидантных ферментов) [Новожилов А.В. и др., 2013]. При длительной гипоксии основная нагрузка переносится с готовых механизмов улучшения транспорта и утилизации O_2 на повышение изменения экономичности энергетических процессов, что достигается

стимуляцией биосинтетических процессов в системах транспорта, регуляции и энергообеспечения: в системах транспорта, в регуляторных системах (увеличение активности ферментов, ответственных за синтез медиаторов и гомонов и увеличения числа рецепторов к ним) в системах энергообеспечения (увеличение числа митохондрий и ферментов окисления и фосфорилирования, синтез гликолитических ферментов) в системе крови стимуляция эритропоэза и появление фетального гемоглобина, обладающего большим сродством к кислороду [Кривошеков С.Г., 2012].

Особое место в сложной иерархии антиоксидантной системы занимает SGK, которое, определяя скорость диссоциации оксигемоглобина, формирует капиллярно-тканевой градиент pO_2 , задает условия диффузии кислорода в ткани и определяет в конечном итоге величину тканевого pO_2 . В организме SGK в значительной степени определяет диффузию кислорода из альвеолярного воздуха в кровь, а затем на уровне капилляров в ткань.

Гемоглобин, поддерживая в плазме определенный уровень pO_2 , способствует адекватному обеспечению тканей кислородом. Распространенность различных гемопротеидов (гемоглобин, миоглобин) в животном и растительном мире (метгемоглобин) можно рассматривать как свидетельство в пользу важной роли гемоглобинов в защите клеток от избытка кислорода. Возможно, что первоначальная функция гемоглобина на ранних этапах эволюции заключалась не столько в обеспечении тканей кислородом, как в защите от него.

В условиях неэффективного использования кислорода в организме при окислительных стрессах разной природы его доля в оксигеназных реакциях резко возрастает и возникает сдвиг прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма в сторону активации процессов ПОЛ. С увеличением поступления кислорода из крови в ткани мощность клеточных ферментативных и неферментативных факторов антиоксидантной защиты может оказаться недостаточной для поддержания оптимального соотношения разных путей использования кислорода. Очевидно, между уровнем функционирования системы транспорта кислорода и мощностью тканевой антиоксидантной системы существует определенное соответствие, нарушение которого обуславливает активацию процессов ПОЛ. В этих условиях ограничение потока

кислорода в ткани в результате повышения СГК будет иметь компенсаторно-приспособительное значение.

NO, продуцируемый эндотелиальными клетками, обеспечивает сосудистую дилатацию и, соответственно, поддержание кровотока на оптимальном уровне для оксигенации тканей. В условиях угнетения синтеза NO ослабление кровотока обуславливает уменьшение тканевого pO_2 . Так, ингибирование NO-синтазы приводит к снижению pO_2 в скелетных мышцах на 30-й минуте с 29 до 11 мм рт. ст. [Pohl U. et al., 1993]. Предполагается, что именно способность эндотелия к активному синтезу NO играет ключевую роль в оптимизации тканевой доставки кислорода в ткани и потребности в нем как в покое, так и в случае функциональной нагрузки [Wagner K.F. et al., 1992]. Установлено, что эндотелиальная изоформа NO-синтазы чувствительна к низким значениям pO_2 , и что гипоксия активирует мРНК, синтезирующую эту изоформу NO-синтазы [Xu X.P. et al., 1995]. В эндотелиальных клетках сосудов мозга после гипоксического повреждения отмечается повышение активности нейрональной изоформы NO-синтазы и образование радикала OH^* [Kumar M. et al., 1996]. Нарушение NO-синтазной функции эндотелия обуславливает в значительной степени потерю контроля за сосудистым тонусом, приводя к снижению адекватного обеспечения кровотоком тканевых потребностей в O_2 , что наблюдается при функциональной и реактивной гиперемии в условиях угнетения синтеза NO [Kostic M.M., Schrader J., 1992; Hussain S.N. et al., 1992]. По-видимому, разные компоненты системы транспорта кислорода, в частности гемический, не всегда способны компенсировать недостаточность кровотока, хотя при введении крысам донора NO, ведущего к образованию больших количеств нитрозогемоглобина (важного модулятора тонуса сосудов на уровне микроциркуляции [Stamler J.S. et al., 1997], отмечается увеличение $p50$ [Kosaka H., Seiyama A., 1996].

Кислородсвязывающие свойства крови в значительной степени формируются на уровне эритроцита, хотя в полном объеме это происходит лишь в условиях циркуляции, во взаимодействии с другими элементами системы транспорта кислорода. Проводить анализ приспособительного значения сдвига КДО влево при кислороддефицитных состояниях разного генеза необходимо с уче-

том кислородзависимого характера ПОЛ. Высокий уровень pO_2 в условиях контролируемой реоксигенации сердца кроликов инициирует в нем лавинообразный рост образования свободных радикалов и приводит к снижению емкости антиоксидантного резерва [Ihnken K. et al., 1995]. Неконтролируемая реактивация окислительной функции митохондрий при реоксигенации усиливает синтез свободных кислородных радикалов и активирует процессы ПОЛ сердца, ведя к необратимому повреждению мембранных структур клетки [Gauduel Y. et al., 1989]. Реперфузия миокарда в условиях гипотермии раствором с высоким pO_2 является нежелательной из-за снижения активности антиоксидантной системы (показатели хемилюминесценции практически не отличаются от исходных при артериальном pO_2 не более 300 мм рт. ст. и значительно возрастают при его больших значениях) [Дементьева И.И. и др., 1990]. Артериальная гипероксемия при искусственном кровообращении увеличивает интенсивность свободнорадикального окисления [Мещеряков А.В. и др., 1990].

В силу высокого сродства оксидаз дыхательной цепи к кислороду скорость его одноэлектронного восстановления линейно повышается с ростом pO_2 [Boveris A., Chance B., 1973]. Повышение pO_2 полностью обеспечивает ресинтез АТФ и создает возможность образования супероксида. При дальнейшем увеличении pO_2 резко возрастает вероятность его генерации и инициируемых им кислородсодержащих радикалов, с наличием которых традиционно связывается токсичность кислорода [Goode H.F. et al., 1995]. Очевидно, что традиционно анализируемые в литературе механизмы антиоксидантной защиты на клеточном уровне, не предотвращая образование супероксида и других активных интермедиатов, способны лишь в определенных пределах устранять "свободнорадикальное зло" [Скулачев В.П., 1995]. Есть основание полагать, что именно этот аспект функционирования антиоксидантной системы объясняет возможность проявлений "кислородного эффекта", "постреперфузионного" синдрома, феномена "кислородной лихорадки".

Активация функций жизненно важных звеньев газотранспортной системы гипоксическим воздействием применяется в спортивной, авиакосмической, подводной медицине и в клинической практике, как пример – метод интервальной гипоксиче-

ской тренировки или прерывистой нормобарической гипоксии [Донина Ж.А., 2011].

Следует иметь в виду, что содержание кислорода в тканях даже при глубокой ишемии остается значительным, превышающим критический уровень, что создает предпосылки для активации ПОЛ в этих условиях. Более того, в зоне ишемии можно обнаружить как полностью аноксические (безкислородные), так и нормально оксигенированные клетки [Демуров Е.А., Игнатова В.А., 1985], что обуславливает возникновение локальной мозаичности, "относительной гипероксии" в тканях. В любом организме в отдельные периоды его жизнедеятельности наблюдается нехватка кислорода или его избыток, ведущие к возникновению неоднородности кислородного обеспечения. Как правило, в реальных условиях существования организма имеет место смешанная, транзиторная гипоксия, в течение которой ишемия сменяется улучшением перфузии и оксигенации, что создает весьма благоприятные условия для активации процессов ПОЛ [Демуров Е.А., Игнатова В.А., 1985].

J.R. Oleson [1995] указывает на близость механизмов изменений, имеющих место при перегревании и реоксигенации. Очевидно, положительное влияние защитного эффекта умеренной гипоксии при "постреперфузионном" синдроме, а также сдвиг КДО влево при гипертермии и лихорадке имеют единую природу. При этом возникают несоответствие между функциональной потребностью тканей в кислороде и их обеспечением, изменение работы протонных помп, уменьшение скорости дыхания митохондрий, конформационные изменения мембраносвязанных белково-ферментных комплексов, происходит снижение энергетического выхода данных реакций, накопление недоокисленных продуктов обмена и последующее развитие всего спектра патологических процессов на клеточном и молекулярном уровнях. Не вызывает сомнений важность патогенетической роли кислорода в постишемическом периоде, когда его содержание резко возрастает и формируется "относительная гипероксия", создающая условия для сдвига прооксидантно-антиоксидантного равновесия в сторону активации ПОЛ.

Гемоглобин и миоглобин в организме, обеспечивая поддержание адекватного уровня внутриклеточного pO_2 , выполня-

ют роль кислородного буфера, определяют адекватность кислородного обеспечения организма в зависимости от его потребности. Очевидно, сдвиг КДО влево при гипертермиях разной природы, оптимизируя поток кислорода в ткани, уменьшает его долю в свободнорадикальных реакциях. Это подтверждается результатами корреляционно-регрессионного анализа о сильной связи SGK с показателями ПОЛ и антиоксидантной системы в условиях окислительного стресса (гипертермии и лихорадки) [Зинчук В.В., 1997; Зинчук В.В., Борисюк М.В., 1999а]. В тоже время уменьшение SGK (что имеет место при ингибировании НО-синтазы при перегревании), повышая количество молекулярного кислорода в тканях, создает в условиях неэффективного использования кислорода предпосылки для активации процессов ПОЛ [Зинчук В.В., Борисюк М.В., 1999б]. По-видимому, сдвиг КДО вправо в условиях дизоксии обуславливает дисбаланс разных путей утилизации кислорода в организме, в частности усиление процессов одноэлектронного переноса, сопровождающееся образованием таких высокореакционно-способных интермедиатов, как синглетный кислород, супероксиданион, гидроксильный радикал. Последние инициируют цепные окислительные реакции, вызывая лавинообразное нарастание окислительной деструкции ненасыщенных липидов биомембран. Ввиду широкой их представленности в клеточных мембранах окислительное их повреждение может потенциально влиять на многие клеточные функции. Продукты ПОЛ могут диффундировать в жидкие среды организма и вызывать повреждение далеко от места первоначальной активации свободнорадикальных процессов. Результаты их взаимодействия с мембранным субстратом проявляются на субклеточном (органеллы), клеточном и органном уровнях.

При гипертермических состояниях разного генеза в организме имеет место дисбаланс между доставкой кислорода и скоростью, эффективностью его использования в клетках. Как известно, ведущая роль в инициации процессов ПОЛ играет не абсолютное содержание кислорода в тканях, а эффективность механизмов его использования, соотношение между количеством генерируемых свободных радикалов и активностью антиоксидантной системы [Зинчук В.В., 2001а]. В связи с этим нам представлялось целесообразным привести в соответствие доставку O_2

в ткани с их потребностью в нем, с возможностями полноценного использования кислорода в этих условиях существования организма.

Несомненно, механизм гипоксической протекции связан с регулированием активности свободнорадикальных процессов в организме путем оптимизации потока кислорода в ткани. В основе "гипероксической гипоксии" лежит снижение активности ферментативных систем, не позволяющее полноценно использовать кислород, растворенный в избытке в крови, а также нарушение нейрогуморальных механизмов регуляции тканевого метаболизма.

Оптимальный уровень функционирования системы транспорта кислорода, проявляемый в минимизации разности между потоком кислорода в ткани и объёмом его эффективного использования в энергопродуцирующих системах, сопряжен с состоянием прооксидантно-антиоксидантного равновесия в организме. Анализ приспособительных изменений кислородсвязывающих свойств крови при перегревании и пирогеналовой лихорадке, как и изменения вышеуказанных свойств в условиях направленной коррекции SGK при этих состояниях следует рассматривать именно в данном аспекте функциональных отношений внутри и вне системы транспорта кислорода.

Анализ результатов собственных исследований и данных литературы показывает, что проблему антиоксидантной защиты организма нельзя рассматривать только с позиции выяснения особенностей функционирования различных звеньев антиоксидантной системы на уровне клетки. Представление о свободнорадикальном окислении как кислородзависимом процессе даёт основание рассматривать антиоксидантную защиту как сложную, мультисистемную по своей организации. Некоторый оптимальный уровень кислорода в тканях и, следовательно, ПОЛ зависит от функционального состояния системы транспорта кислорода, отдельных ее компонентов и механизмов их регуляции [Борисюк М.В. и др., 1989]. Очевидно, что систему оптимизации поддержания уровня кислорода, необходимого для обеспечения синтеза АТФ и генерации свободных радикалов в физиологических концентрациях, следует рассматривать на основе принципа мультипараметрического взаимодействия. Функциональная

система гомеостаза в данном случае выступает как сложная структурно-функциональная организация высшего порядка, для достижения соответствующего полезного приспособительного результата которой согласованно взаимодействуют и интегрируются элементы разных функциональных систем [Судаков К.В., 1987]. Одни и те же эффекторы входят в состав многих функциональных систем, обеспечивая адекватное поддержание "пространственно-временного континуума" гомеостатического жизнеобеспечения организма. Процессы транспорта кислорода и его утилизация тесно сопряжены с механизмами поддержания прооксидантно-антиоксидантного равновесия.

Рассмотренные данные о характере изменения кислородсвязывающих свойств крови, свободнорадикального окисления, их сопряженности, указывают на сложный механизм участия данных свойств крови в формировании должного уровня прооксидантно-антиоксидантного равновесия. Выбор стратегии коррекции окислительного стресса не может быть строго однозначным, к этой проблеме следует подходить дифференцированно. Важным является приведение положения КДО в соответствие с кислородутилизирующими возможностями тканей при этих состояниях, что и составляет принципиальную сущность функционирования физиологических механизмов антиоксидантной протекции организма. Внутриклеточные, клеточные и надклеточные механизмы посредством сложных взаимоотношений формируют физиологический уровень оптимальной организации поддержания прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма. Гемоглобин, изменяя свое сродство к кислороду, может выполнять буферную функцию, корригируя поток кислорода в ткани в соответствии с их потребностью в нем, и тем самым предупреждая избыточное его поступление и дальнейшее перераспределение с оксидазного пути на оксигеназный. SGK не только является важным механизмом формирования адекватного потока кислорода в ткани и обеспечения их потребности в нем, но и механизмом, определяющим эффективность функционирования антиоксидантной системы, в конечном итоге – всей организации поддержания прооксидантно-антиоксидантного равновесия в организме.

4.2 Сдвиги ПОЛ при острой и хронической ИБС

ПОЛ мембранных структур ишемизированного миокарда на первой стадии развития, обратимо повышая проницаемость сарколеммы, способствует выбросу лактата и других восстановленных эквивалентов из поврежденного кардиомиоцита и пролонгации периода обратимых изменений в ишемизированном миокарде. При дальнейшей интенсификации ПОЛ деструктивные изменения мембранных структур приводят к необратимым сдвигам, и этот процесс может рассматриваться как один из универсальных механизмов дезорганизации и гибели клетки.

Исследование динамики развития ПОЛ в зависимости от длительности ишемии показало, что при перевязке коронарной артерии изменения ПОЛ отмечаются уже через 30 минут и достигают максимума через 2 часа после окклюзии (табл.31). Важно отметить увеличение образования при острой ишемии миокарда как продуктов ПОЛ (гидроперекиси и МДА), так и повышение потенциала железоиндуцированного ПОЛ по показателям скорости нарастания и светосуммы медленной вспышки хемилюминесценции. Сходная картина отмечена и при "тепловой" ишемии сердца, однако, в отличие от острой коронарогенной ишемии, в этих опытах наблюдалось укорочение периода индукции медленной вспышки хемилюминесценции. Динамика ПОЛ при острой ишемии миокарда позволяет полагать, что попытки его торможения через 90-120 минут после коронарной окклюзии могут иметь "терапевтический" смысл, ибо к этому периоду компенсаторная роль первой фазы ПОЛ в поддержании жизнеспособности основной массы ишемизированного миокарда уже практически исчерпана [Сергеев П.В. и др., 1991; Гацура В.В. и др., 1992, 1996].

Утверждение концепции о биологической значимости ПОЛ в формировании ишемической альтерации миокарда является одним из фундаментальных достижений современной отечественной молекулярной кардиофармакологии [Кудрин А. Н. и др., 1978; Биленко М. В., 1989; GatsuraV., GukasovV., 1988].

Таблица 31. – Показатели ПОЛ в ишемизированном миокарде после перевязки коронарной артерии сердца собаки (I) [TörökV., 1987], “тепловой” ишемии изолированного сердца собаки (II) [Биленко М.В., 1989], коронарогенной (III) и “тепловой” (IV) ишемии миокарда крыс [Головкин В.Д. и др., 1988]

Параметры ПОЛ	Длительность ишемии, мин.			
	30	60	120	180
I. ТБК-реагирующие соединения, %	102,5±5,6	130,2±8,1*	135,4±7,4*	152,7±14,0*
Глутатион восстановленный, %	100,1±5,3	95,5±7,9	93,5±7,3	92,3±6,8
СОД, ЕД на 1гвлажной ткани миокарда	112,8±10,0 (123,0±4,2)	100,8±8,9	54,1±18,2*	67,6±36,3
АОА (ч·мл·мг ⁻¹ липида)	-71 (+1100)	-1167*	-1872*	
II. Гидроперекиси, %	275*	237*	187*	
Диеновые конъюгаты, %	293*	186*	250*	
III. Интенсивность-быстрой вспышки ХЛ, усл. ед.		78,7±7,7* (42,8±1,9)	91,5±5,0*	
IV.	89,0±1,0* (45,4±6,2)	94,4±12,6*	135,2±9,0*	120,0±7,2*
III. Скорость нарастания медленной вспышки ХЛ, tg α		0,16±0,01 (0,12±0,02)	0,29±0,03*	
IV.	0,62±0,07* (0,24±0,01)	0,83±0,10*	0,78±0,04*	0,97±0,04*
III. Светосумма медленной вспышки ХЛ, мм ²		293±41 (260 ± 66)	6396±78	
IV.	382±67 (177±18)	536±84*	1066±88*	1300±193*

Примечание: ТБК – тиобарбитуровая кислота; АОА – антиоксидантная активность; в скобках приведены контрольные данные; * - статистически достоверные различия с контролем (p<0,05)

Кардиолипиды миоцитов находятся главным образом в митохондриях (около 60% липидов), микросомах (около 30%), цитоплазме (около 16%) и сарколемме [KochenJ. etal., 1959]. Липиды митохондрий и микросом представлены преимущественно фосфатидами (94%) и холестерином [SpiroD., 1966].

Миофибриллы практически не содержат липидов: 91% саркосомальных фосфатидов представлены фосфатидом инозитола, сирингомиелином, лецитином, плазмалогеном, фосфатидами серина, этаноламина и полиглицерола (кардиолипина).

Свободные жирные кислоты, из которых пальмитиновая и стеариновая кислоты составляют 70-80%, образуются главным образом за счет внутриклеточных липидов. Суммарное количество триглицеридов, мобилизуемых при перфузии изолированного сердца растворами, содержащими только глюкозу, способно обеспечить синтез АТФ, достаточный для поддержания сократительной активности сердца, лишь в течение 30-40 минут [NeelyJ., MorganH., 1973].

Определенный интерес представляет изучение содержания глицеролипидов с прямой эфирной связью в фосфолипидах миокарда разных видов животных, что важно учитывать при выборе объекта исследования и сопоставлении данных, характеризующих сдвиги липидного обмена при патологии и фармакологических воздействиях [Дембицкий В.М., 1987].

Полиеновые жирные кислоты миокардиальных фосфолипидов играют существенную роль в метаболизме катехоламинов, в частности, тормозят активность катехол-ортометилтрансферазы и активируют микросомальное окисление адреналина в кардиотоксический адренохром. Последний повышает пероксидацию полиеновых кислот и вызывает повреждение мембран [GudbjarnasonS. et al., 1978].

С другой стороны, эйкозаноиды (арахидоновая и другие полиеновые кислоты), являющиеся предшественниками простагландинов, имеют важное значение в поддержании гомеостаза кардиомиоцитов, в частности, при иммуногенном повреждении миокарда, спазме коронарных сосудов и других патологических состояниях [Сагач Ф.В., Буряков И.Е., 1986].

Липиды миоцитов являются физиологической матрицей для ферментов саркосом, микросом и ядер клеток миокарда [OlsonR., 1958; MallovS. et al., 1983]. E. Stotzetal. [1958] показали, что мицеллы очищенных ферментов саркосом включают фосфатиды, холестерол и другие липиды. Транспортные системы электронов сердечных саркосом также включают различные липопротеиды с ферментативной активностью.

Представленные выше материалы свидетельствуют о том, что ПОЛ затрагивает практически все основные витальные процессы, определяющие жизнеспособность ишемизированных кардиомиоцитов. Важным направлением экспериментально-терапевтических исследований в области коррекции обмена липидов является торможение ПОЛ мембранных структур кардиомиоцитов, которому отводится основная роль в патогенезе ишемической альтерации миокарда.

Следует полагать, что в условиях ишемии миокарда усиление ПОЛ связано с мобилизацией остаточного внутриклеточного кислорода на фоне истощения пула антиоксидантных ферментов и развитием прооксидантного эффекта кальция цитоплазмы [Гуткин В.Д., Петрович Ю.А., 1986].

Накопление в острый период ишемии двухвалентного железа и "оголение" липидного слоя мембран указывает и на другие возможные механизмы "растормаживания" ПОЛ и повреждения мембранных структур миокарда [Владимиров Ю.А., Арчаков А.И., 1975; Козлов А.В. и др., 1985]. Заслуживают внимания данные об уменьшении почти в 10 раз активности глутатионпероксидазы в условиях метаболического ацидоза (при снижении pH с 7,5 до 6,75), что может быть одним из пусковых механизмов ПОЛ при ишемии миокарда. В этом же плане небезынтересны сведения о снижении содержания восстановленного глутатиона и SH-содержащих белков при ишемии изолированного сердца кролика и защитном эффекте N-ацетилцистеина [Ceconi C. et al., 1988].

При реоксигенации ишемизированного миокарда в случаях снятия спазма коронарных артерий или резкого повышения коллатерального кровотока отмечается увеличение активности NADH-оксидазы, рассматриваемое как один из показателей роста ПОЛ [Vanderplassche G., Borghers M., 1988]. Альтерация кардиомиоцитов при повышении ПОЛ обусловлена не только накоплением токсических продуктов ПОЛ, но также изменением содержания в мембранах липидов, определяющих активность энзимов, а также чувствительность рецепторных образований мембран.

При повышении ПОЛ наблюдается снижение активности ферментов, "работающих" в жидкой фазе мембраны в присутствии легкоокисляющихся липидов, торможение окислительного фосфорилирования в митохондриях сердца и ряд других эффек-

тов [NakamuraJ. et al., 1980]. Торможение ПОЛ антиоксидантами (токоферол, ретинол, убихиноны, полифенолы, дибунол (4-метил-2,6-ди-трет-бутилфенол), гидроксипиридины) восстанавливает активность данных ферментов.

Таким образом, ПОЛ рассматривается как один из ключевых регуляторных механизмов функционирования мембранных структур кардиомиоцита, обеспечивающих на начальном этапе сбалансированного повышения ПОЛ компенсаторное увеличение проницаемости сарколеммы.

Повышение проницаемости сарколеммы в свою очередь облегчает диффузионный транспорт недоокисленных продуктов метаболизма ишемизированного миокарда и тем самым пролонгирует фазу обратимых повреждений мембранных структур внутриклеточных образований кардиомиоцитов. Наряду с этим эффектом образование минимальных концентраций гидроперекисей жирных кислот (10^{-9} - 10^{-7} М) активирует синтез простаглицина и оксида азота (эндотелий-продуцируемого релаксирующего фактора), обладающих коронародилататорным и другими кардиопротекторными свойствами при ишемии миокарда [AitchisonR., CokerS., 1998].

Активные формы кислорода инициируют процессы preconditionирования [DasD. et al., 1999], активируют эпсилон-изоформы протеинкиназы С, митохондриальные каналы $K_{\text{атр}}$ и могут рассматриваться как основные медиаторы ишемического preconditionирования [BolliR., 1996; CohenM. et al., 2001; TangX.-L. et al., 2002]. По данным спектрофотометрических исследований, супероксидный кислород повышает оксигенацию гемоглобина в гемолизате за счет активации СОД и последующего образования молекулярного кислорода из перекиси водорода [Сторожук П.Г., 2000].

Введение антиоксидантов перед воспроизведением ишемии изолированного сердца крысы существенно снижало падение сократительной активности миокарда и уровня макроэргов по сравнению с контролем, что также расценивается как доказательство позитивного влияния продуктов ПОЛ на биоэнергетику миокарда в начальной фазе ишемии [KlawitterP. et al., 2002].

При истощении пула эндогенных антиоксидантов и развитии внутриклеточного ацидоза [HessM. et al., 1982] ПОЛ приобре-

тает неконтролируемый характер и вызывает прогрессирующее повреждение липидных структур мембран, приводящее к разрушению структур клетки и ее гибели. Существенную роль в генезе ПОЛ играет факт взаимосвязи аффинитета гемоглобина к кислороду и некоторых параметров ПОЛ [Борисюк М.В., 1993; Заводник И.Б., Лапшина Е.А., 1996]. В частности, снижение СГК и поступление последнего в ткани может способствовать интенсификации процессов ПОЛ.

С другой стороны, динамика активности антиоксидантной системы эритроцитов крови рассматривается как один из важных показателей уровня мобилизации компенсаторных механизмов в условиях патологии [Сторожук П.Г., 2000].

Антиоксидантный статус ишемизированного миокарда влияет также и на характер взаимодействия эндотелия сосудов в зоне ишемии с лейкоцитами и тромбоцитами. Многофакторный механизм адгезии лейкоцитов и влияние формирующих ее агентов на эндотелий коронарных сосудов и уровень миграции лейкоцитов в прилегающие ткани определяют их провоспалительное действие, в значительной мере связанное с выбросом свободных радикалов [Утешев Д.Б., Утешев Б.С., 1997; Hayward R. et al., 1999]. Схема лейкоцит-эндотелиальных взаимодействий и некоторые возможные подходы к нейтрализации провоспалительного действия нейтрофилов представлены на рисунке 44.

Показана, в частности, перспективность применения антагонистов селектина Р в качестве агентов, ограничивающих интенсивность реперфузионного повреждения миокарда [Hayward R. et al., 1999]. Рассматривая ПОЛ в плане причинно-следственных связей, определяющих ишемическое повреждение миокарда, следует подчеркнуть вторичность ПОЛ. Роль первичных факторов играют преимущественно нарушение энергообеспечения процессов клеточного гомеостаза и истощение потенциала антиоксидантных систем кардиомиоцитов. Так, В. Török [1987] показал, что накопление продуктов ПОЛ в гомогенатах миокарда развивается постепенно в течение 3 ч после перевязки коронарной артерии у собак на фоне опережающего снижения активности СОД (табл. 31).

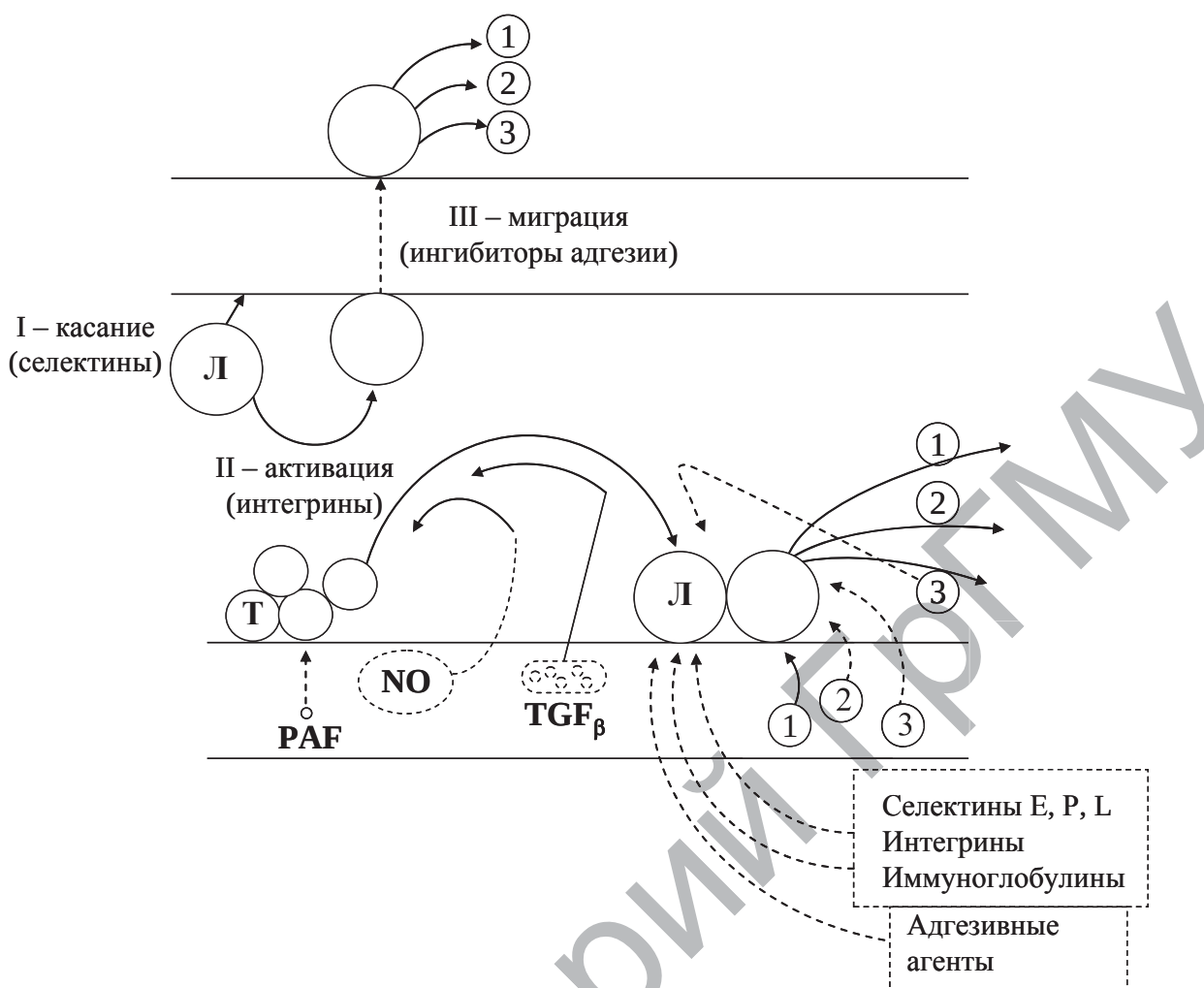


Рисунок 44. – Лейкоцит-эндотелиальные взаимодействия в сосудах ишемизированного миокарда [Утешев Д.Б., Утешев Б.С., 1997]:

Л – лейкоциты; Т – тромбоциты; 1 – супероксидный радикал; 2 – протеазы; 3 – метаболиты арахидоновой кислоты (тромбоксан В, лейкотриен В, интерлейкин-1, TNF α , простагландины). Торможение провоспалительного действия нейтрофилов и факторов эндотелиальной природы (PAF – plateletactivatingfactor, TNF α , – tumornecrosisfactor; TGF β – transforminggrowthfactor)

Исследование динамики Fe-индуцированного ПОЛ гомогенатов ишемизированного миокарда при перевязке коронарной артерии у крыс и "тепловой" ишемии сердец также показало, что максимум потенциала ПОЛ наблюдается через 2 часа ишемического воздействия [Головкин В.Д. и др., 1988]. Участие ПОЛ в патогенезе альтерации тканей, развивающейся в первые 15-60 минут острой аноксии или тотальной ишемии, все еще не имеет однозначной трактовки [Galinas M. et al., 1996; Kuller L., 2001].

Динамика сдвигов ПОЛ при острой ишемии позволяет полагать, что попытки торможения ПОЛ могут иметь терапевтиче-

ский смысл лишь на 40-60-й минуте острой коронарной недостаточности при истощении пула эндогенных антиоксидантов. Антигипоксический и противоишемический эффекты антиоксидантов в первые 60 минут действия повреждающего фактора определяются главным образом другими сторонами их фармакологической активности.

4.3 Влияние средств комплексной фармакотерапии ИБС на ПОЛ

Изучение влияния фармакологических агентов на ПОЛ в сопоставлении с их воздействием на коллатеральное коронарное кровообращение и другие функциональные параметры сердечной деятельности весьма существенно для понимания удельного веса ингибирования ПОЛ в формировании интегрального кардиопротекторного эффекта в острый период ишемии миокарда.

Имеется значительная информация о защитном действии антиоксидантов при ишемии миокарда [Калмыкова В.И., 1978; Бурлакова Е.Б., 1980; Биленко М.В., 1989; Гацура В.В. и др., 1992, 1996]. Особый интерес представляет высокая эффективность препаратов селена [Кудрин А.Н. и др., 1978; Hoshida S. et al., 1999] и СОД [Naslund U. et al., 1988] по тесту ограничения зоны некроза при окклюзии коронарной артерии. Так, в опытах на свиньях при 30-минутной окклюзии введение СОД вызывало уменьшение размеров очага некроза до $23,8 \pm 4,9\%$ от зоны ишемии при $45,5 \pm 5,0\%$ в контроле. Еще более выраженный эффект наблюдали S. Wernset al. [1988] в экспериментах на собаках с окклюзией коронарной артерии в течение 90 мин. и последующей реперфузии при определении зоны некроза через 6 ч после перевязки. При введении СОД (5 мг/кг внутривенно) в течение 15 мин. до перевязки и в первые 15 мин. после нее отмечено снижение зоны некроза до $17,5 \pm 1,7\%$ области ишемии (в контроле — $42,7 \pm 4,4\%$). Однако есть данные, что при введении СОД через 15 мин. после окклюзии коронарной артерии величина зоны некроза практически не изменялась [Uraizee A. et al., 1987]. При анализе данных о влиянии СОД на развитие ИМ ключевыми являются возможность доставки СОД к очагу ишемии и фаза формирования инфаркта. Учет этих обстоятельств позволяет более пред-

метно подойти к оценке потенциального противоишемического действия СОД, которое обнаруживается достаточно закономерно.

Отмечая перспективность фармакологической регуляции ПОЛ для прикладной кардиологии, необходимо подчеркнуть, что в условиях ишемии важное значение могут иметь и электроноакцепторные свойства потенциальных антиоксидантов, а их лечебный эффект может быть, по крайней мере частично, обусловлен этой стороной их физиологической активности.

С целью выяснения терапевтического противоишемического эффекта современных синтетических антиоксидантов или, точнее, соединений с преимущественно антиоксидантной активностью, ниже рассматривается биологическая активность этого класса препаратов.

Имеющиеся в литературе данные о противоишемическом действии антиоксидантов – производных 2-этил-6-метилтриоксипиридина – приведены в ряде обзоров [Гацура В.В., Смирнов Л.Д., 1992; Дюмаев К.М. и др., 1995].

Систематические исследования противоишемического действия антиоксидантов – производных 3-оксипиридина и оксиникотиновой кислоты, в том числе и их водорастворимых форм – показали, что кардиопротекторный эффект этих соединений может проявляться как на фоне их предварительного введения, так и в случаях внутривенного введения после окклюзии коронарной артерии.

Определенный интерес для оценки интегрального противоишемического действия антиоксидантов представляют результаты изучения их влияния на размеры некроза при экспериментальном ИМ у крыс (табл.32).

Внутривенное введение эмоксипина (26 мг/кг), мексидола (30 мг/кг) и назначение внутрь пробукола (50 мг/кг) вызывало достоверный кардиопротекторный эффект по тесту отношения зоны некроза к зоне ишемии (соответственно, $32 \pm 4,6$; $46 \pm 5,6$ и $50 \pm 2,5\%$ при $68 \pm 4,3\%$ в контроле). Выраженное ограничение зоны некроза наблюдалось и при введении некоторых производных оксиникотиновой кислоты [Некипелова А.А., 1996].

По этому показателю защитный эффект антиоксидантов был близок к уровню ограничения зоны некроза, наблюдавшемуся при введении максимально эффективных доз пропранолола.

Весьма активным по этому тесту оказалось соединение ЛБК-149, являющееся производным изоникотиновой кислоты [Гершаник Г.М., 2000].

Эти аспекты фармакологической активности антиоксидантов в начальной стадии ишемии миокарда могут способствовать сохранению пула эндогенных антиоксидантов и ослаблению ишемической альтерации, детерминированной вспышкой ПОЛ.

Таблица 32. – Влияние антиоксидантов на размер инфаркта миокарда у крыс после 4-часовой окклюзии коронарной артерии ($M \pm m$) [Гацура В.В. и др., 1996]

Препарат, доза, мг/кг	Число опытов	Зона ишемии, % от общей массы миокарда	Зона некроза, % от общей массы миокарда	Зона некроза/зона ишемии, %	Частота развития постокклюзионной аритмии, %
Контроль	17	$34 \pm 2,6$	$22 \pm 2,0$	$68 \pm 4,3$	72
Мексидол: 30,0 в/в	8	$27 \pm 2,9$	$12 \pm 1,4^*$	$46 \pm 5,6^*$	37*
50,0 в/в	6	$30 \pm 1,8$	$5 \pm 0,7^*$	$16 \pm 2,8^*$	0*
30,0 внутрь	8	$34 \pm 4,8$	$18 \pm 2,9$	$52 \pm 6,7$	0*
Сукцинат натрия, 100,0 в/в	14	$30 \pm 3,3$	$11 \pm 2,6^*$	$38 \pm 5,9^*$	86
	9	$27 \pm 3,8$	$9 \pm 2,4^*$	$32 \pm 4,6^*$	56
Эмоксипин, 26,0 в/в	7	$33 \pm 5,2$	$16 \pm 3,1$	$50 \pm 2,5^*$	0*
Пробукол, 50,0 внутрь	11	$30 \pm 3,5$	$11 \pm 1,6^*$	$39 \pm 5,5^*$	27*
Пропранолол, 1,0 в/в					

Примечание: * – статистическая достоверность различий с контролем ($p < 0,05$)

Представленный выше анализ основных фармакологических эффектов эмоксипина и мексидола – наиболее изученных препаратов из ряда производных 3-оксипиридина – представляет существенный интерес для понимания механизма формирования противоишемического действия данных соединений, что важно для проведения дальнейшего целенаправленного синтеза новых кар-

диоактивных антиоксидантов [Смирнов Л.Д., Дюмаев К.М., 1987].

В экспериментальной оценке антиоксидантной активности при ишемии и остром ИМ наиболее информативные данные могут быть получены при исследовании активности ферментных антиоксидантных систем – СОД, каталазы [Ланкин В.З. и др., 1987] и потенциала ПОЛ гомогенатов миокарда при Fe^{2+} -индуцированной вспышке ПОЛ [Владимиров Ю.А. и др., 1989, 1991; Чукаев С.А., 1993]. Как следует из анализа основных механизмов действия ингибиторов ПОЛ, современные аспекты поиска новых эффективных антиоксидантов связаны главным образом со стабилизацией пула эндогенных антиоксидантов, снижением взаимодействия фосфолипидов мембранных структур с фосфолипазой А₂, торможением конверсии ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу на фоне повышенного гидролиза АТФ, и инактивацией микроэлементов-катализаторов ПОЛ.

Представляется также важной разработка основного типа антиоксидантов – ловушек свободных радикалов. В этом плане синтез антиоксидантов в ряду производных 3-оксипиридина базируется на тщательном учете их возможного взаимодействия с липофильными и водорастворимыми радикалами в фосфолипидных мембранах в точках радикалообразования [Дюмаев К.М. и др., 1995]. Заслуживает также специального изучения отмеченный у некоторых производных 3-оксипиридина ингибиторный эффект в отношении протеолитических ферментов, с которым могут быть связаны нейротропное действие, оксидативная инактивация ангиотензинпревращающего фермента [Сахаров И.Ю. и др., 1991] и некоторые другие фармакологические эффекты этих соединений [Сейфулла Р.Д., Борисова И.Г., 1990]. Это тем более важно, что в ряде случаев торможение ПОЛ является вторичным эффектом в формировании противоишемического действия ряда веществ, нередко рассматриваемых как антиоксиданты [WernsS. et al., 1991].

Имеющиеся данные о противоишемическом действии энергообеспечивающих и антиангинальных средств при экспериментальном ИМ в большинстве случаев коррелируют с динамикой потенциала железоиндуцированного ПОЛ.

Однако количественный анализ соотношения влияния фруктозо-1,6-дифосфата, цитохрома с, малата и сукцината на ПОЛ с действием на продолжительность биоэлектрической активности сердца мышей при аноксии и противоишемическим эффектом по тесту ограничения зоны некроза миокарда не выявил (табл. 33) прямой связи между этими видами активности у малата и сукцината [Гацура В.В., 1993].

Таблица 33. – Влияние энергообеспечивающих средств на течение ишемии и потенциал ПОЛ

Условия опыта	Доза, мг/кг	Интенсивность быстрой вспышки, ХЛ, % к контролю	Fe ²⁺ - индуцированный МДА, % к исходному	Зона некроза/ зона ишемии, %
Фруктозо – 1,6-дифосфат	3,0	73,4*	132*	28±5,5*
Цитохром с	20,0	63,4*	152*	32±3,4*
Сукцинат натрия	100,0	82,4*	543	38±6,5*
Малат натрия	200,0	90,6	478	30±3,8
Пропранолол	0,84	84,6	131*	48±7,4*
Верапамил	0,30	105,9	129*	41±14,1*
Контроль	-	100,0	472	68±4,3*

Примечание: * – статистическая достоверность различий с контролем (p<0,05)

Исследование в этом аспекте основных антиангинальных средств показало [Головкин В.Д. и др., 1988], что введение нитроглицерина, верапамила и пропранолола за 10 минут до перевязки коронарной артерии приводило к некоторому снижению латентного периода ПОЛ (табл.34). Курантил (дипиридамола) существенно не влиял на ПОЛ при его введении как до, так и после перевязки коронарной артерии. Верапамил и пропранолол, введенные через 5 минут после окклюзии коронарной артерии, повышали ПОЛ по тесту МДА, тогда как нитроглицерин тормозил Fe²⁺-индуцированное ПОЛ в гомогенатах ишемизированного миокарда по данным светосуммы медленной вспышки.

Предварительное введение нитроглицерина, верапамила и пропранолола при тепловой ишемии миокарда снижало потенциал железоиндуцированного ПОЛ и накопление МДА. Дипиридамола (курантил) и на этой модели ишемии миокарда практически

не влиял на кинетику ПОЛ. Однако при исследовании дипиридамола в опытах *invitrona* эритроцитах отмечено определенное торможение ПОЛ, индуцированного гидроперекисью кумена, сопровождавшееся повышением содержания витамина К [KusmicS. etal., 1999].

Таблица 34. – Влияние антиангинальных препаратов, введенных за 10 мин до перевязки коронарной артерии (А) и на 5-й минуте ишемии миокарда (Б), на показатели Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ [Головкин В.Д. и др., 1988]

Серия опытов (п)	Доза мг/кг	Показатель хемилюминесценции			
		Интен- сивность быстрой вспышки, отн. ед.	Латентный период, мин.	Скорость медленной вспышки, отн. ед.	Свето- сумма, отн. ед.
А					
Нитроглицерин (10)	2,0	9,60±0,19	2,43±0,18*	0,26±0,03	425±66
Верапамил (8)	0,3	9,55±0,55	2,35±0,32*	0,17±0,03	300±76
Дипиридамол (10)	4,0	9,50±0,51	3,28±0,37	0,32±0,13	567±102
Пропранолол (10)	0,84	7,63±0,48	2,69±0,28*	0,20±0,03	430±98
Б					
Нитроглицерин (10)	2,0	9,87±0,37	2,75±0,35	0,22±0,03	310±40*
Верапамил (10)	0,3	9,01±0,51	3,09±0,22	0,18±0,03	290±50
Дипиридамол (10)	4,0	9,36±0,45	3,14±0,36	0,03±0,05	575±88
Пропранолол (10)	0,84	8,19±0,35	3,26±0,39	0,21±0,02	316±40
Ишемизирован- ный миокард (10)		9,01±0,64*	4,30±0,56*	0,25±0,05	487±84*
Интактный мио- кард (10)		4,50±0,12	2,60±0,27	0,12±0,01	285±38

Примечание: * – статистическая достоверность различий серий 1-8 с серией 9; серии 9 с серией 10 ($p < 0,05$)

Учет специфики влияния на ПОЛ исследованных антиангинальных средств заслуживает внимания при проведении комбинированной фармакотерапии острой ишемии миокарда.

По данным W. Weglicki и I. TongMak[1992], активность многих вазодилататоров коррелирует с их антиоксидантным действием, способностью комплексообразования с металлами и активацией связанной гуанилатциклазы. Эти данные представляют-

ся весьма существенными для понимания молекулярных механизмов вазодилатации.

Комплексное исследование влияния блокаторов кальциевых каналов на СГК, ДЭ и ПОЛ позволило получить интересный материал о взаимосвязи этих сторон активности в формировании противоишемического действия соединений (табл. 35).

Таблица 35. – Влияние верапамила и амлодипина на некоторые показатели ПОЛ донорской крови *invitro*

п	Серия опытов	Концентрация, нг/мл (n)	МДА, нмоль/г Нб		СОД, ЕД/г Нб	
			5 мин.	120 мин.	5 мин.	120 мин.
1.	Контроль	- (10)	4,0±0,07	3,1±0,07	1281±33	1281±32
2.	Верапамил	16,0 (10)	4,0±0,11	2,8±0,12	1281±24	931±45*
		80,0 (10)	6,0±0,11*	2,9±0,07	1276±54	1077±54*
3.	Амлодипин	0,4 (10)	4,0±0,11	3,0±0,13	1282±32	1207±20
		2,0 (10)	2,3±0,11*	2,4±0,12*	1284±26	404±64*

Примечание: * – достоверность различий с контролем ($p < 0,05$)

Особенности действия верапамила и амлодипина на СГК и ДЭ в значительной степени коррелируют с их сопутствующим тормозящим влиянием на некоторые показатели ПОЛ (накопление МДА, светосумма железоиндуцированной хемилюминесценции, активность СОД) как в опытах *invitro*, так и *invivo*.

Следует отметить, что в опытах на крысах с экспериментальным ИМ угнетающее воздействие верапамила и амлодипина на ПОЛ проявлялось на фоне существенного ограничения размеров инфаркта (табл. 36).

При анализе сдвигов параметров ПОЛ в наблюдениях на волонтерах отмечен регуляторный нормализующий эффект амлодипина: при высоких значениях накопления МДА, активности каталазы и глутатионпероксидазы – тенденция к снижению, при низких – к повышению. Аналогичный эффект наблюдался и при действии верапамила, за исключением некоторой тенденции к снижению активности глутатионпероксидазы.

Существенных закономерных сдвигов активности Cu,Zn-СОД в наблюдениях на волонтерах не наблюдалось (табл. 37).

Таблица 36. – Влияние верапамила и амлодипина на размеры инфаркта миокарда и некоторые параметры ПОЛ у крыс с окклюзией передней нисходящей ветви левой коронарной артерии

Серия опытов	n	РИМ, % массы ЛЖ	МДА, мкмоль/л			Светосумма Fe-индуцированной ХЛ		
			Исходн. данные	Через 4 часа	Сдвиги в % к исходу	Исходн. данные	Через 4 часа	Сдвиги в % к исходу
Контроль	10	47,38±0,45	0,405±0,006	0,644±0,011	+59,35±0,39	0,450±0,006	0,841±0,014	+86,88±0,22
Верапамил, 1 мг/кг	16	40,59±0,56*	0,393±0,026	0,596±0,009*	+46,21±0,28	0,431±0,019	0,762±0,004*	+79,06±0,27
5 мг/кг	16	33,58±0,79*	0,402±0,0045	0,523±0,008*	+29,33±0,10	0,445±0,005	0,708±0,008*	+60,79±0,14
Амлодипин, 0,25 мг/кг	16	38,53±0,60*	0,398±0,009	0,599±0,008*	+45,08±0,19	0,444±0,006	0,808±0,007	+75,35±0,26
1,0 мг/кг	16	33,69±1,22*	0,399±0,006	0,537±0,013*	+30,0±0,22	0,439±0,008	0,860±0,011	+81,86±0,17

Примечание: * – достоверность различий с контролем (p<0,05); РИМ – размер инфаркта миокарда; ЛЖ – левый желудочек

Таблица 37. – Влияние верапамила и амлодипина на некоторые параметры ПОЛ и СГК, по данным наблюдений на волонтерах

Препарат	Группа наблюдений	p50, мм рт. ст.	МДА, нмоль/мл	Каталаза, ммоль/мин/г Hb	Глутатион-пероксидаза, мкмоль/мин/г Hb	Cu, Zn-супероксид-дисмутаза, ЕД/г Hb
Верапамил	Исходные данные (n)	27,7±0,1 (4)	4,5±0,5 (8)	22,3±1,2 (8)	31,2±2,5 (8)	193,2±19,2 (8)
	Препарат	27,5±0,1	4,2±0,2	22,5±0,8	28,5±1,8	210,3±25,3
Амлодипин	Исходные данные (n)	27,7±0,2 (5)	4,1±0,3 (7)	21,3±1,8 (7)	31,8±2,0 (7)	171,4±14,3 (7)
	Препарат	27,8±0,1	4,1±0,3	21,4±2,0	31,3±1,7	174,9±8,0

Исследование эналаприла и лозартана при их введении за 15 минут до перевязки нисходящей ветви левой коронарной артерии у крыс показало, что оба препарата вызывают статистически значимое ограничение размеров экспериментального инфаркта на 22,8-31,9% (табл. 38).

Таблица 38. – Влияние эналаприла и лозартана на размеры инфаркта и некоторые показатели ПОЛ у крыс с лигированием передней нисходящей ветви левой коронарной артерии

Серия опытов	n	РИМ, % массы ЛЖ	МДА, мкМ/л			Светосумма Fe-индуцированной ХЛ, усл. ед.		
			Исходн. данные	Через 4 часа	Сдвиги в % к исходному	Исходн/данные	Через 4 часа	Сдвиги в % к исходному
Контроль	10	47,38±0,45	0,405±0,006	0,644±0,011	+59,35±0,39	0,450±0,006	0,841±0,014	+86,88±0,22
Эналаприл, 0,1 мг/кг	16	36,90±0,97*	0,403±0,006	0,610±0,012*	+49,30±0,16	0,444±0,007	0,745±0,005*	+77,06±0,32
0,5 мг/кг	16	35,29±0,64*	0,406±0,006	0,579±0,008*	+41,16±0,17	0,436±0,006	0,778±0,009*	+60,48±0,70
Лозартан, 0,5 мг/кг	16	35,64±0,74*	0,402±0,005	0,592±0,007*	+47,82±0,12	0,431±0,006	0,774±0,012*	+78,59±0,20
2,5 мг/кг	16	32,18±1,13*	0,406±0,005	0,547±0,008*	+40,89±0,11	0,438±0,007	0,718±0,012*	+64,04±0,18

Примечание: * – достоверность различий с контролем ($p < 0,05$); РИМ – размер инфаркта миокарда; ЛЖ – левый желудочек

Следует отметить, что при этом эналаприл и лозартан во всех исследованных дозах вызывали значительное уменьшение накопления в плазме крови МДА и снижение потенциала железоиндуцированной хемилюминесценции (табл. 38). При исследовании сдвигов МДА и СОД в донорской крови под влиянием эналаприла в малой концентрации (0,4 нг/мл) в первые 5 минут наблюдалась некоторая активация накопления МДА при отсутствии сдвигов активности СОД.

В более высокой концентрации и эналаприл, и лозартан тормозили накопление МДА через 5 минут воздействия и практически не изменяли уровня накопления МДА по сравнению с контролем при 120-минутной экспозиции (табл. 39). Однако лозартан в отличие от эналаприла в аналогичных условиях достоверно понижал активность СОД.

Таблица 39. – Влияние эналаприла и лозартана на МДА и СОД донорской крови

Серия опытов	Концентрация, нг/мл (n)	МДА, нмоль/г Нб		СОД, ЕД/г Нб	
		5 мин.	120 мин.	5 мин.	120 мин.
Контроль	(10)	4,0±0,07	3,1±0,07	1281±33	1281±32
Эналаприл	0,4 (10)	6,0±0,12*	3,1±0,12	1284±41	1336±37
	2,0 (10)	2,5±0,10*	2,9±0,10	1276±41	1250±21
Лозартан	0,4 (10)	4,0±0,11	3,1±0,09	1281±39	920±48*
	2,0 (10)	3,0±0,09*	2,9±0,11	1272±56	1060±48*

Примечание: * – достоверность различий с контролем ($p < 0,05$)

В наблюдениях на волонтерах эналаприл и лозартан, как и БКК, не вызывали заметных сдвигов $p50$ (табл.40) при взятии проб крови в период пика концентрации препаратов в плазме.

Таблица 40. – Влияние эналаприла и лозартана на СГК и некоторые параметры ПОЛ

Препарат	Группа наблюдений	$p50$, мм рт.ст.	МДА, нмоль/мл	Каталаза, ммоль/мин/г Нб	Глутатионпероксидаза, мкмоль/мин/г Нб	Cu, Zn-супероксиддисмутаза, ЕД/г Нб
Эналаприл	Исходные данные (n)	27,5±0,1 (6)	5,0±0,2 (8)	21,2±0,9 (8)	29,6±1,8 (8)	203,2±19,8 (8)
	Препарат	27,5±0,1	4,9±0,3	21,4±1,6	30,8±2,3	246,3±29,9 [#]
Лозартан	Исходные данные (n)	27,2±0,2 (3)	5,3±0,5 (9)	19,0±1,0 (9)	22,5±1,4 (9)	182,8±4,0 (9)
	Препарат	27,2±0,1	4,8±0,4	20,2±1,3	21,2±1,5	160,7±4,5*

Примечания: * – $p < 0,05$; [#] – $0,05 < p < 0,1$ (по парному критерию Стьюдента)

Результаты исследования ряда параметров ПОЛ после приема эналаприла и лозартана, представленные выше в табл.40, свидетельствуют о слабовыраженной тенденции к торможению накопления МДА при отсутствии сдвигов активности каталазы и глутатионпероксидазы. Сдвиги активности Cu,Zn-СОД при введении эналаприла и лозартана были прямо противоположны – тенденция к ее повышению в первом случае и достоверное снижение активности при назначении лозартана. Указанные эффекты коррелируют со сдвигами активности СОД, установленными в опытах *invitro* (табл. 39). Наблюдаемое влияние лозартана на параметры ПОЛ можно в определенной мере связать с вызываемой

препаратом активизацией СГК. Отмеченные ранее изменения СГК и ДЭ, вызываемые НЭЛИ в пробах донорской крови *invitro*, наблюдались на фоне активации ПОЛ (табл.41).

Таблица 41. – Влияние НЭЛИ на МДА и СОД в опытах *invitro*

Воздействие	Время облучения	МДА, нмоль/г Нб (n)	СОД, ЕД/г Нб (n)
Контроль	-	1,5±0,10 (10)	1555±41 (10)
НЭЛИ	2 мин.	4,4±0,18* (10)	2247±55* (10)
	15 мин.	2,2±0,17 (10)	1846±37* (10)

Примечание: * – достоверность различий с контролем (p<0,05)

В пробах крови, взятой у крыс через 4 ч после перевязки коронарной артерии, НЭЛИ при 15-минутной экспозиции, проведенной до перевязки сосуда, вызывало слабо выраженное, но достоверное снижение накопления в плазме крови МДА и светосуммы Fe-индуцированной хемилюминесценции (табл.42). В этой серии опытов отмечалось и достоверное снижение размера ИМ с 47,38±0,45% массы левого желудочка до 37,81±1,09% (p<0,05). Данный эффект может быть также связан с дилатацией сосудов, закономерно развивающейся как в зоне облучения, так и в организме в целом [Леонтьева Н.В., 2000]. Определенную роль в формировании вазодилатации может играть диссоциация комплекса NO-гемоглобин и положительное влияние окиси азота на микроциркуляцию в зоне острой ишемии миокарда [Борисенко Г.Г. и др., 1997].

Таблица 42. – Влияние НЭЛИ на размеры инфаркта и некоторые параметры ПОЛ у крыс с лигированием передней нисходящей ветви левой коронарной артерии

Серия опытов	РИМ, % массы ЛЖ	МДА, мкмоль/л			Светосумма Fe-индуцированной ХЛ, у.е.		
		Исходн. данные	Через 4 часа	Сдвиги в %	Исходн. данные	Через 4 часа	Сдвиги в %
Контроль	47,38±0,45	0,405±0,006	0,644±0,011	+59,35±0,39	0,450±0,006	0,841±0,014	+86,88±0,22
НЭЛИ, 2 мин.	45,69±0,76	0,404±0,004	0,605±0,004	+50,56±0,10	0,431±0,007	0,814±0,014	+89,91±0,27
НЭЛИ, 15 мин.	37,81±1,09*	0,408±0,006	0,590±0,008*	+44,83±0,13	0,436±0,007	0,796±0,016*	+83,28±0,25

Примечание: * – достоверность различий с контролем (p<0,05); РИМ – размер инфаркта миокарда; ЛЖ – левый желудочек

Исследование влияния НЭЛИ в наблюдениях на волонтерах показало, что однократное 15-минутное облучение сосудистого пучка в области локтевого сгиба не вызывало заметных изменений параметров ПОЛ (табл. 43).

Весьма интересные возможности повышения окислительного потенциала кислорода в гипоксических тканях выявлены при исследовании влияния НЭЛИ на митохондриальную продукцию АТФ [Козлов В. И., 1993].

В частности, было установлено, что основным субстратом, поглощающим энергию НЭЛИ, является конечный акцептор электронов дыхательной цепи – кислород, тогда как высокомолекулярные компоненты цепи в этом плане инертны [Данилов В. П. и др., 1990; Гладких С. П. и др., 1996]. Поглощая лазерное излучение, кислород переходит в синглетное состояние, активируя процесс транспорта электронов в других звеньях дыхательной цепи.

Таблица 43. – Воздействие НЭЛИ на СГК и некоторые параметры ПОЛ, по данным наблюдений на волонтерах

Группа наблюдений	$p50$, мм рт. ст.	МДА, нмоль/мл	Каталаза, ммоль/ мин/г Hb	Глутатион- пероксидаза, мкмоль/мин/г Hb	Cu, Zn- супероксид- дис-мутаза, ЕД/г Hb
Исходное (n)	27,5±0,2 (6)	4,0±0,2 (9)	20,9±1,6 (9)	22,7±1,8 (9)	187,4±12,8 (9)
НЭЛИ	27,4±0,1	4,6±0,4	21,0±1,4	24,9±1,6	190,5±6,1

Проводимый расчет оптимальных доз лазерного эпикутанного облучения при низкоэнергетической лазерной терапии и анализ возможностей избирательного воздействия на сердечную мышцу открывают новые подходы к оптимизации неингаляционной оксигенотерапии ИБС [Гладких С.П. и др., 1996, 1998].

Таким образом, представленные выше данные о влиянии НЭЛИ на ПОЛ, а также отмеченные ранее сдвиги СГК и ДЭ позволяют подойти к пониманию механизма противоишемического действия НЭЛИ как при экспериментальном инфаркте, так и при ИБС [Кипшидзе Н.Н. и др., 1990; Berlin G. et al., 2000].

4.4 Анализ взаимоотношений сдвигов сродства гемоглобина к крови, деформируемость эритроцитов и ПОЛ при ишемии миокарда и действии средств фармакотерапии ИБС

Проблеме анализа причинно-следственных сдвигов параметров ПОЛ, СГК и ДЭ как факторов, определяющих степень повреждения миокарда при ИБС, посвящен целый ряд обзоров и клинико-экспериментальных исследований [Зинчук В.В. и др., 1996, 1999; Гацупа С.В., 2000; Huang G. et al., 2000; Berlin G. et al., 2002]. Сложность трактовки накопленных в этой области данных определяется необходимостью учета фазы ишемического повреждения миокарда, а также оценки взаимосвязи и роли сдвигов СГК, ДЭ и ПОЛ в компенсаторных процессах.

С этих позиций представляется важным анализ влияния сдвигов ПОЛ и дефицита кислорода на обеспечение гомеостаза (выживаемости) кардиомиоцитов при коронарной недостаточности. Трудно переоценить при этом роль нейрогуморальных (системных) механизмов регуляции в формировании защитных, компенсаторных реакций организма при ИБС, в конечном результате приводящих к сдвигам СГК и ДЭ, оптимизирующим уровень доставки кислорода в ишемизированный миокард.

Схема, характеризующая взаимосвязь сдвигов показателей СГК, ДЭ и ПОЛ, типичных для ишемии миокарда (рис.45), в общих чертах отражает современные представления о роли и месте данных факторов в структуре компенсаторных процессов при острой недостаточности коронарного кровообращения.

Анализ литературы свидетельствует, что центральное положение в этой схеме занимают сдвиги ПОЛ. Сдвиги ПОЛ при острой ишемии и их роль в компенсаторных процессах в начальной фазе патологии подтверждаются многочисленными клинико-экспериментальными данными [Биленко М. В., 1989; Хачатурьян М. Л. и др., 1996; Das D. et al., 1999].

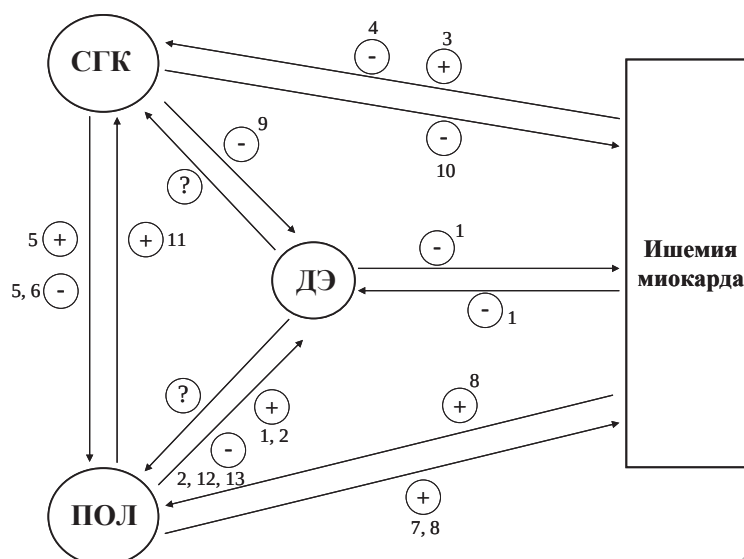


Рисунок 45. – Схема причинно-следственных связей сдвигов SGK, ДЭ и ПОЛ при ишемии миокарда и их влияние на компенсаторные процессы в миокарде

Условные обозначения: $\ominus$ и $\oplus$ – торможение и активация при повышении значения SGK, ДЭ и ПОЛ. Цифрами указаны ссылки на литературные источники. 1. Saldanha C. et al., 1999. 2. Kikugawa K. et al., 1984; Imre S. et al., 1994. 3. Лис М.А., 1993. 4. Kostuk W. et al., 1993; Huang G. et al., 2000. 5. Зинчук В.В., Галушко И.Н., 1993; Корнейчик В.Н., Селявко А.А., 1993; Борисюк М.В., Корнейчик В.Н., 1993. 6. Зинчук В.В. и др., 1996. 7. Хачатурьян М.Л. и др., 1996; Тимочко М.Ф. и др., 1996; Das D. et al., 1999. 8. Биленко М. В., 1985. 9. Stoltz J. et al., 1987. 10. Berlin G. et al., 2002. 11. Зинчук В.В., Борисюк М.В., 1999. 12. Watanabe H. et al., 1990. 13. Baskurt O., 1999.

Сдвиги проницаемости сарколеммы на стадии контролируемой активации ПОЛ трактуются как адаптационная реакция, способствующая диффузионному транспорту недоокисленных метаболитов и пролонгации стадии обратимой альтерации внутриклеточных структур. Важно также подчеркнуть, что на этой фазе ПОЛ активирует синтез простагличина и NO [Altman J. et al., 1993], обладающих коронарорасширяющим действием.

Последующее развитие внутриклеточного ацидоза, истощение пула эндогенных антиоксидантов вызывает неконтролируемый рост ПОЛ, приводящий к прогрессирующей деструкции липидов сарколеммы и мембран субклеточных элементов, а в конечном итоге – к гибели кардиомиоцитов.

Как свидетельствуют клиничко-экспериментальные данные, снижение SGK является важным и быстро мобилизуемым факто-

ром компенсации дефицита кислорода в ишемизированном миокарде. Так, уже через 2 часа после развития острого ИМ отмечается повышение $p50$ с $27,1 \pm 0,3$ мм рт. ст. до 32,4 мм рт. ст., а у пациентов, умерших в течение 1 месяца, $p50$ превышало 32 мм рт. ст. [KostukN. et al., 1973]. Компенсаторная значимость сдвигов SGK подкрепляется клиническими данными о том, что при ИМ переливание крови с высоким SGK может быть причиной резкого ухудшения состояния пациентов [WoodsonR., 1979]. Полученные данные о высоком противоишемическом эффекте аллостерических стимуляторов диссоциации оксигемоглобина (RSR-13 и др.) подчеркивают актуальность учета этой стороны фармакологической активности средств, применяемых при ИБС [Eichelbronner O. et al., 1999, 2002; WahrJ. et al., 2001].

Заслуживают внимания данные о взаимосвязи изменений SGK и некоторых показателей ПОЛ в условиях острой гипоксии [Борисюк М.В. и др., 1993; Заводник И.Б., Лапшина Е.А., 1996]. В частности, снижение SGK и активация диссоциации оксигемоглобина в капиллярах при истощении пула эндогенных антиоксидантов могут вести к повышению интенсивности процессов ПОЛ, как это имеет место при реперфузии ишемического миокарда. С другой стороны, наблюдаемое под влиянием МДА повышение SGK может рассматриваться как адаптационная реакция [KikugawaK. et al., 1984]. Весьма интересной в этом плане представляется также гипотеза о существенной роли эритроцитов в инаktivации продуктов ПОЛ [Сторожук П.Г., 2000; RichardsR. et al., 1998].

В ряде экспериментальных работ показано выраженное негативное влияние активации ПОЛ на ДЭ [WatanabeH. et al., 1990; BegumA., TeraoJ., 2002; AlexyT. et al., 2002; BiltoY., SubohS., 2002; YererM. et al., 2002].

В мембранах эритроцитов ПОЛ приводит к образованию флюоресцирующих производных фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина и агрегатов спектринсодержащих протеинов, снижающих ДЭ [PfafferottC. et al., 1982].

Эти данные указывают на актуальность дальнейшего изучения взаимосвязи ПОЛ и ДЭ для понимания роли структурных изменений мембраны эритроцитов в кинетике поступления O_2 в плазму крови и генезе сдвигов микроциркуляции в ишемизированных тканях.

Биологическая значимость ПОЛ в условиях патологии во всем ее многообразии привлекает в последнее десятилетие самое пристальное внимание специалистов в области биохимической фармакологии. В частности, при рассмотрении сдвигов ПОЛ при катехоламиновой и стрессорной гиперлипидемии высказывается предположение, что накапливающиеся при этом жирные кислоты как возможный субстрат ПОЛ могут усиливать кардиотоксическое действие катехоламинов [Кудрин А.Н., 1978].

С другой стороны, свободные жирные кислоты, подвергающиеся перекисному окислению, вовлекают в этот процесс катехоламины и ускоряют их инактивацию. Кроме того, свободные жирные кислоты, образуя перекиси, обратимо связывают кислород, который может быть использован для реакций ферментативного окисления. Вследствие наличия непереломных связей жирные кислоты в принципе могут также служить и акцепторами водорода. По мнению А.Н. Кудрина [1984], заслуживает внимания и возможное участие свободнорадикальных соединений в инактивации недоокисленных продуктов метаболизма, образующихся при ишемии миокарда, что может тормозить аутоинтоксикацию. Аналогичная биорегуляторная роль продуктов ПОЛ может быть прослежена и при анализе механизма их влияния на синтез тромбоксана и простаглицлина [Лакин К.М. и др., 1982; Bourgain R., 1980].

Таким образом, при рассмотрении фармакологических свойств известных и потенциальных средств фармакотерапии ИБС учет их прямого и опосредованного влияния на ПОЛ заслуживает специального анализа с целью повышения эффективности их дифференцированного применения в кардиологии и выработки тактики оптимальной комбинированной терапии.

Данные о негативном влиянии продуктов ПОЛ на кислород-транспортную функцию крови и микроциркуляцию в гипоксических тканях [Watanabe H. et al., 1990; Guerra L. et al., 1996] подчеркивают актуальность дальнейшего изучения роли ПОЛ в формировании противоишемического действия сердечно-сосудистых средств.

Сдвиги ДЭ, также как и ПОЛ, при коронарной недостаточности имеют фазовый характер [Saldanha C. et al., 1999]. Так, при ишемии миокарда отмечено снижение ДЭ [Kikugawa K. et al.,

1984; ImreS. etal., 1994], которое расценивается как неблагоприятный прогностический симптом [Виноградов А.В. и др., 1990]. Анализ сдвигов ДЭ при гипертонической болезни также свидетельствует о нарастании снижения ДЭ с прогрессированием АГ [Шабанов В.А. и др., 2001]. Необходимо при этом отметить, что превращение дисковидного эритроцита в сферический путем воздействия 1% раствором лецитина может существенно повышать СГК (р50 снижается в среднем на 5 мм рт. ст.), однако следует подчеркнуть, что прямое влияние лецитина на СГК при этом не исследовалось [ValtisD., BaikieA., 1955; DrakeE. etal., 1963]. Исследование сдвигов ДЭ становится одним из потенциально ведущих направлений в области фармакологической коррекции микроциркуляции в ишемизированных тканях.

Особый интерес представляет исследование влияния на ДЭ антиишемических средств как в плане понимания механизма формирования их терапевтического действия, так и в аспекте предупреждения возможных побочных эффектов, связанных со снижением ДЭ. Отдельные работы этого плана не позволяют выявить достаточно четкие корреляции между регистрируемыми параметрами СГК, ДЭ и ПОЛ не только в клинических наблюдениях, но и экспериментах *invitro*. В частности, верапамил на фоне повышения СГК и торможения деоксигенации вызывал снижение накопления МДА и активности СОД [Гацура С.В., Гукасов В.М., 1992]. При этом под влиянием верапамила отмечалось и некоторое снижение ДЭ [Sowemimo-CokerS. etal., 1985].

Дальнейшие перспективы исследования ДЭ как фактора активации микроциркуляции в физиологических и фармакологических работах связаны с совершенствованием технического оснащения методических приемов и обоснованием их адекватности для оценки динамики ДЭ в клинических условиях.

Следует подчеркнуть, что это положение в полной мере относится и к стратегии исследования влияния фармакологических средств на кислородтранспортную функцию крови. Важно также отметить, что разработка современных компьютеризированных информативных методов исследования фармакологической регуляции СГК и ДЭ и использование их при медико-лабораторной паспортизации пациентов являются необходимым условием успешного развития клинико-экспериментальных работ по пробле-

ме фармакологической коррекции кислороддефицитных состояний в кардиологической практике.

Необходимость учета роли сдвигов СГК, ДЭ и ПОЛ в компенсаторных процессах в разные фазы ишемического повреждения миокарда определяет сложность трактовки данных, накопленных в этой области.

Следует также учитывать роль ведущих факторов нейрогуморальных (системных) механизмов регуляции в формировании защитных компенсаторных реакций организма при ИБС и их влияние на СГК и ДЭ, способствующее повышению уровня доставки кислорода в ишемизированный миокард.

Проведенные в этом плане исследования ряда важнейших средств фармакотерапии ИБС позволяют более предметно проанализировать некоторые аспекты взаимосвязи сдвигов СГК, ДЭ и ПОЛ [Гацура С.В. и др., 1992-2004].

Результаты исследования верапамила, амлодипина, эналаприла и лозартана на ПОЛ при экспериментальном ИМ у крыс показали, что все указанные выше препараты ограничивают размеры некроза на фоне существенного торможения параметров ПОЛ [Гацура С. В. и др., 2003, 2004].

В частности, верапамил на фоне повышения СГК и торможения деоксигенации крови в опытах *invitro* вызывал снижение накопления МДА и активности СОД при некотором повышении ригидности мембран эритроцитов.

Специфика действия амлодипина (снижение СГК и повышение ДЭ), отмеченная в этих исследованиях, указывает на определенное участие данных эффектов в формировании особенностей его интегрального действия, связанных с ранее установленным позитивным влиянием амлодипина на общее и коллатеральное коронарное кровообращение [Perondi R. et al., 1994], отсутствием гиперкатехоламинемии и активации ренин-ангиотензиновой системы [Packer M. et al., 1991; Nayler W., 1997].

Исследования взаимосвязи величины сдвига параметров ДЭ и ПОЛ у волонтеров под влиянием верапамила и амлодипина выявило отрицательную корреляцию между исходной фильтруемостью эритроцитов и ее сдвигом после однократного приема амлодипина ($r=-0,71$). Аналогичные соотношения были установлены между исходным уровнем и сдвигом активности каталазы

($r=-0,94$) и Cu,Zn-СОД ($r=-0,84$; $\rho=-0,93$; $\tau=-0,81$). Эти данные свидетельствуют, что при высоких исходных величинах указанных показателей у волонтеров их значение под воздействием амлодипина уменьшается. Таким образом, при корреляционном анализе выявлена достоверная взаимосвязь между исходным уровнем t_b/t_s , каталазы и Cu,Zn-СОД и влиянием амлодипина на эти параметры у здоровых добровольцев, которое можно охарактеризовать как регуляторное, “нормализующее”.

Действие верапамила в этом отношении оказалось более выраженным – отрицательная корреляция исходного уровня ДЭ со сдвигом, вызванным приемом препарата, выявлена не только по тесту t_b/t_s ($r=-0,72$; $\rho=-0,67$; $\tau=-0,57$), но и для U_{cr} ($r=-0,82$; $\rho=-0,85$; $\tau=-0,70$). При исследовании сдвигов ПОЛ аналогичная закономерность показана для МДА, каталазы и глутатионпероксидазы.

Априори можно было полагать, что отсутствие активации адренергической иннервации, брадикининзависимых эффектов, компенсаторной реакции ренин-ангиотензиновой системы и снижение уровня вазопрессина при блокаде АII-рецепторов [Zhang H. et al., 1999; Zhu P. et al., 1999] могут обуславливать различия в действии лозартана и эналаприла на ДЭ, SGK и ПОЛ. Однако и в этом случае наблюдалась корреляция сдвигов SGK и ДЭ с изменениями уровня ПОЛ.

Положительное влияние эналаприла и лозартана на ДЭ у пациентов с АГ [Shand B., 2000] совпадает с динамикой ДЭ по индексу ригидности и тесту t_b/t_s , отмеченной в наблюдениях *in vitro* на суспензии эритроцитов с 0,1% гематокритом при исследовании эналаприла и лозартана в концентрациях 50 и 250 нг/мл, соответственно. Лозартан повышал также ДЭ, регистрируемую при эктацитометрии по индексу эллиптичности.

В условиях наблюдений на волонтерах и аналитических экспериментов лозартан и эналаприл существенно не влияли на SGK, и лишь при действии высоких концентраций *invitro* лозартан статистически достоверно повышал SGK, что может представлять определенный интерес в плане терапии гипоксических состояний, связанных с нарушениями легочной вентиляции или низким содержанием кислорода во вдыхаемом воздухе.

При корреляционном анализе исходных показателей ДЭ и ПОЛ и выявленных сдвигов после приема эналаприла единствен-

ной статистически значимой закономерностью явилась их прямая связь по непараметрическим критериям при анализе динамики активности каталазы ($\rho = 0,79$; $\tau = 0,69$).

Отрицательная корреляционная связь между исходной деформируемостью и ее сдвигом после приема препарата отмечена для лозартана как по показателю t_b/t_s ($r = -0,68$; $\tau = -0,51$), так и по тесту U_{cr} ($r = -0,69$; $\rho = -0,64$). Выявлена также достоверная отрицательная корреляция между исходным уровнем и сдвигом МДА плазмы под влиянием лозартана как по коэффициенту Пирсона ($r = -0,74$), так и при непараметрическом анализе по Спирмену ($\rho = -0,73$).

Анализ влияния НЭЛИ в этом плане на кислородтранспортную функцию крови по данным опытов *invitro* показал, что его эффект проявлялся в снижении СГК и ДЭ на фоне повышения регистрируемых параметров ПОЛ. 15-минутное облучение НЭЛИ проб донорской крови вызывало повышение накопления МДА и активности СОД при некотором (с $30,57 \pm 0,35$ до $32,02 \pm 1,02$ мм рт. ст.) увеличении $p50$. В условиях данного эксперимента отмечено также снижение ДЭ как по тесту индекса ригидности, так и скорости фильтрации. Феномен "обострения" ПОЛ связывается с разрушением (под влиянием НЭЛИ) менее устойчивых субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов [Кипшидзе Н.Н. и др., 1992].

В опытах на крысах с экспериментальным ИМ через 4 часа после перевязки коронарной артерии под влиянием НЭЛИ наблюдалось достоверное ограничение размеров некроза миокарда на фоне сопутствующего уменьшения уровня накопления МДА в плазме крови и снижения светосуммы железоиндуцированной хемилюминесценции.

Анализ взаимосвязи между базовым уровнем и изменениями показателей ДЭ и ПОЛ после 15-минутного сеанса НЭЛИ выявил выраженную обратную корреляцию между исходной активностью СОД и ее сдвигами как по параметрическим ($r = -0,90$), так и непараметрическим ($\rho = -0,85$; $\tau = -0,72$) критериям.

Таким образом, оценка сдвигов СГК, ДЭ и ПОЛ в опытах *in vitro* на пробах донорской крови определяет первичный эффект НЭЛИ, который является лишь одним из компонентов механизма формирования сдвигов этих параметров в целостном организме, тем более в условиях патологии.

Резюмируя результаты корреляционного анализа, можно отметить наличие четкой и достоверной обратной связи между исходной фильтруемостью эритроцитов и ее сдвигами под влиянием амлодипина, верапамила и лозартана – все эти препараты повышают ДЭ лишь при исходно сниженных показателях. С ростом исходного t_b/t_s в подгруппах эффект перечисленных лекарственных средств нивелируется, вплоть до его инверсии в отдельных наблюдениях. В отношении динамики активности эритроцитарных антиоксидантных ферментов аналогичная взаимосвязь была показана для Cu,Zn-СОД (после назначения амлодипина, верапамила и НЭЛИ), каталазы (при приеме амлодипина и верапамила) и глутатионпероксидазы (в группе волонтеров, принимавших верапамил).

Взаимосвязь влияния изученных препаратов и НЭЛИ на определяемые параметры ДЭ и ПОЛ с их исходным уровнем, установленная в наблюдениях на здоровых волонтерах, позволяет трактовать отрицательную корреляцию величины исходного значения показателя и регистрируемого после введения сдвига как регуляторный “нормализующий” эффект воздействия.

Исходные данные СГК, ДЭ и ряда параметров ПОЛ, полученные в исследованиях, проведенных на здоровых добровольцах, позволили получить достаточно емкую общую картину диапазона фоновых колебаний изучаемых показателей.

Необходимо, однако, отметить, что в наблюдениях на здоровых волонтерах какой-либо корреляции между базовыми показателями ПОЛ и ДЭ не выявлено.

Проведенный дополнительно статистический анализ не выявил также различий в исходных значениях величин, связанных с полом волонтеров. При сопоставлении параметров СГК, ДЭ и ПОЛ в группах волонтеров старше и младше 30 лет была отмечена достоверно более высокая ДЭ в младшей возрастной группе. Следует отметить, что снижение ДЭ у волонтеров старше 30 лет сопровождалось достоверным в сравнении с группой более молодых испытуемых повышением активности эритроцитарной СОД ($211,3 \pm 21,4$ против $160,6 \pm 13,5$ ЕД/г Нb), которое, вероятно, имеет в данном случае возрастной компенсаторный характер.

Эти данные представляются небезынтересными при продолжении клинико-фармакологических исследований в данном

направлении в условиях коронарной патологии, а также в качестве исходных показателей при проведении медико-лабораторной паспортизации.

В заключение следует подчеркнуть, что изложенные выше результаты исследований свидетельствуют о наличии специфики действия амлодипина, верапамила, лозартана, эналаприла и НЭ-ЛИ на кислородтранспортную функцию крови и могут быть полезны при разработке оптимальных схем индивидуализированной терапии кислороддефицитных состояний указанными препаратами. В этом же аспекте весьма важной представляется оценка этой стороны фармакологической активности и у других средств терапии ИБС.

Представленный материал наряду с данными об эффективном использовании в лечении ИБС аллостерических модификаторов СГК типа RSR-13 [VenitzJ. et al., 1999; WahrJ. et al., 2001] и препаратов, повышающих ДЭ [StarzykD. et al., 1999; Лисовская И.Л., 2004] указывает на перспективность дальнейшего развития клинико-экспериментальных работ в области совершенствования фармакотерапии кислородзависимых патологических состояний.

ГЛАВА 5. ДОНАТОРЫ КИСЛОРОДА

Основные направления стратегии проведения неингаляционной оксигенотерапии следующие:

1. Исследование эффективности применения растворов нативного и модифицированного гемоглобина как в чистом виде, так и при их структурировании на "моделях" эритроцитов или в форме полимерных макромолекул гемоглобина. К этому направлению следует отнести и попытки использования координационных соединений, включающих микроэлементы-аналоги закисного железа в структуре гема, в том числе аналоги металлопроизводных хлорофилла [Гудкин Л.Р. и др., 1988; Baron J., 1999; Gulati A. et al., 1999].

2. Изучение прикладных аспектов применения растворов низкомолекулярных донаторов кислорода типа персульфата натрия [Ванников Л.П., 1981; Казаченко Т.М., 1996].

3. Разработка кислородпереносящих трансфузионных растворов на основе кислородной емкости фторированных органических соединений [Белоярцев Ф.Ф., 1979; Воробьев С.И., 1994].

4. Известно что, способность ишемизированного миокарда утилизировать кислород является одним из функциональных показателей обратимости его альтерации. Потребность тканей организма в сутки составляет 600 литров O_2 . Эта потребность покрывается главным образом за счет высвобождения кислорода при диссоциации оксигемоглобина, так как величина растворенного в плазме крови кислорода ничтожно мала (0,2-0,3 мл на 100 мл крови).

Для увеличения поступления кислорода в зону ишемии наряду со стимуляцией коллатерального коронарного кровообращения [Гацура В.В., 1969] уже давно предпринимаются попытки максимального насыщения крови кислородом за счет вдыхания последнего при атмосферном или повышенном давлении [Ефуни С.Н. и др., 1984].

Принципиальные предпосылки применения гипербарической оксигенации при острой коронарной недостаточности базируются на довольно противоречивых экспериментальных данных.

Так, G. Smith и D. Lawson еще в 1958 г. установили, что при окклюзии огибающей ветви левой коронарной артерии выживаемость собак резко повышается в случае назначения кислорода под давлением 2 атм. N. Meijneetal. [1968] в опытах на собаках с перевязкой нисходящей ветви левой коронарной артерии показали, что при вдыхании кислорода под давлением 3 атм несколько повышается коллатеральный кровоток и уменьшается содержание молочной кислоты в артериальной крови. Насыщение кислородом центральной зоны ишемии миокарда в этих случаях повышалось почти до уровня кислорода в интактных участках миокарда, а также значительно увеличивалось потребление лактата миокардом. При этом отмечено положительное влияние гипербарической оксигенации на артериальное и венозное давление, сократительные свойства и возбудимость миокарда [PetrooulosP., 1968]. При изучении эффекта гипербарической оксигенации в опытах на крысах с изадриновыми некрозами миокарда выявлено закономерное повышение тканевого дыхания и энергетического резерва адениловой кислоты [Резников К.М., 1971].

С другой стороны, отмечены коронароконстрикторный эффект гипербарической оксигенации, снижение сократительной активности миокарда, активизация ПОЛ и проявлений мембранотоксического действия его продуктов [Демуров Е.А. и др., 1984; Биленко М.В., 1989].

Перспективность применения при ИБС нормо- или гипербарической оксигенации на фоне назначения антиоксидантов, предупреждающих "взрыв" ПОЛ, убедительно аргументирована рядом экспериментальных исследований [Демуров Е.А. и др., 1984; Биленко М.В., 1989].

Однако в условиях клиники эта проблема находится на начальном этапе исследований. В обстоятельной работе И.М. Соколова [1997] показано, что гипербарическая оксигенация в щадящем режиме на фоне антиоксидантной терапии в реаниматологической практике патогенетически обоснована при напряжении O_2 в артериальной крови ниже 70 мм рт. ст. и снижении артериовенозной разницы по O_2 . Определенный интерес для практической медицины может представлять изобарическая оксигенотерапия. В частности, заслуживает внимания широкое использование в США и ряде других странах кислородных батарей и уст-

ройств, обогащающих кислородом вдыхаемый воздух за счет избирательной адсорбции азота цеолитами. Применение в домашних условиях подобных простейших систем при бронхиальной астме и некоторых других формах хронической легочной недостаточности позволило резко повысить эффективность лечения данных заболеваний [Dobson M., 1999; Sherman J., 1999; Kasmarek R., 2000].

Следует подчеркнуть, что проблематичность широкого применения гипербарической оксигенации при ИБС, связанная со сложностью ее реализации вне специализированных клиник и необходимостью индивидуализированного использования антиоксидантов, определяет целесообразность современных попыток совершенствования средств и методов неингаляционной оксигенотерапии.

5.1 Препараты гемоглобина

Как было отмечено выше, насыщение плазмы крови кислородом при оксигенобаротерпии до максимума (0,2-0,3 мл на 100 мл крови) не играет сколько-нибудь существенной роли в обеспечении жизнеспособности ишемизированного миокарда.

С этих позиций применение донаторов кислорода может быть оправдано главным образом в ситуациях, связанных с нарушением оксигенации гемоглобина. Однако при этом нельзя исключать определенного позитивного влияния кислорода, растворенного в плазме, в системе "плазменных" микрокапилляров диаметром менее 3 мкм.

Проблема использования растворов внеэритроцитарного гемоглобина имеет длительную историю [Amberson W., 1947]. Наряду с очевидными достоинствами применения растворов гемоглобина (возможность длительного хранения, отсутствие необходимости типирования групп крови, оксигенация плазмы в микроциркуляторном русле, антигенная и инфекционная безопасность) сразу же выявились весьма существенные недостатки кислородтранспортной функции этого препарата. К ним следует отнести прежде всего кратковременность его действия, связанную с распадом тетрамеров гемоглобина на димеры, нефротоксичность и, главное, – отсутствие опосредованных через структуры эритроцита регуляторных физиологических механизмов активации дис-

социации окисленного гемоглобина [BaronJ., 1999; RemyB. et al., 1999].

Последующие многочисленные работы в данной области были направлены главным образом на преодоление этих недостатков гемоглобинсодержащих кровезамещающих растворов (см. сборник "Переносчики кислорода", [1979/ред. Я. Розенберг/; Платэ Н.А. и др., 1986; BaronJ., 1999].

Одной из успешных попыток использования модифицированного гемоглобина является разработка препарата "Геленпол" Российским НИИ гематологии и трансфузиологии совместно с НИИ высокомолекулярных соединений РАН. Препарат, разрешенный к клиническому применению в 1998 г., помимо кровезамещающего действия существенно стимулировал эритропоэз [Корик В.Е., 2000].

В подобных работах, помимо гемоглобина крови человека, широко используется более доступный бычий гемоглобин [GonzalezP. et al., 1997]. Весьма интенсивно развиваются также рекомбинантные биотехнологии получения гемоглобина с заданными свойствами. Так, в частности, модифицированный тетрамер гемоглобина с глициновыми мостиками между α -субъединицами прошел испытания на волонтерах с позитивными результатами [ShoemakerS. et al., 1994].

Промежуточные итоги усилий по созданию рекомбинантного человеческого гемоглобина со сниженным родством к кислороду и повышенной устойчивостью доказывают перспективность этого направления, хотя высокие затраты на производство могут препятствовать широкому применению подобных препаратов [Varnado C.L. et al., 2013].

Несомненный интерес представляет также перспектива биотехнологического получения подобного животному гемоглобина с низким СГК, стабильным тетрамером и устойчивостью к окислительному повреждению NO диоксигеназой, что было показано на примере сравнения гемоглобина рыбы *Trematomus bernacchii* и человека [Coppola D. et al., 2011].

5.2 Кислородпереносящие фторуглеродные растворы

Экспериментальные исследования газотранспортной функции модифицированного гемоглобина показали эффективность

подобного подхода к решению проблем неингаляционной оксигенотерапии, однако технологические трудности выделения и модификации гемоглобина, кратковременность его циркуляции в крови и довольно высокая токсичность предлагаемых препаратов обусловили активность поиска альтернативных кислородпереносящих средств.

В прикладном плане наиболее успешными оказались работы по использованию кислородтранспортных свойств перфторуглеродов, хотя путь их внедрения был достаточно тернист.

Основные этапы внедрения фторуглеродных кислородтранспортных эмульсий:

1975 г. – R. Geger (Гарвардский медицинский центр, США), показал защитный эффект полной замены крови на перфторуглеродную эмульсию при смертельном отравлении окисью углерода.

1979 г. – японская фирма “GreenCrossCorporation” выпустила коммерческий препарат на фторуглеродной основе “Флюозол-ДА”.

1979 г. – Ф.Ф. Белоярцев установил кислородобеспечивающий эффект перфузии сердца перфтортрибутиламином.

1982 г. – разработка препарата “Перфторан”.

1983 г. – FDA (США) приостановил применение фторуглеродных эмульсий в связи с недостаточно убедительными результатами клинических испытаний.

1984-1985 г. – разрешение ФК МЗ СССР на клинические испытания перфторана.

1990 г. – FDA (США) разрешил применение препарата “Флюозол” для оксигенации при гипоксии миокарда и позднее – препарата второго поколения “Охугент”.

1993 г. – возобновление клинических испытаний перфторана.

Ниже в таблице 44 представлены основные свойства наиболее известных фторуглеродных кислородпереносящих растворов.

Таблица 44. – Сравнительная характеристика некоторых перфторуглеродных эмульсий [Воробьев С.И., 1994; Riess J.G. et al., 1995]

Параметры	Эмульсия перфторорганических соединений (Япония)	Перфторан (Россия)	Оксигент (США)
Концентрация перфторорганический соединений	20 об., %	20 об., %	31-52 об., %
Период полувыведения	ПФД – 7 дней ПФТПА – 65 дней	ПФД – 7 дней ПФМЦП – 90 дней	4 дня
Чистота перфторорганических соединений	ПФД≈93% ПФТПА≈85%	ПФД≈94% ПФМЦП≈97%	Более 99 %
Содержание фтора, мг/л	1,0	0,05	3,8
Стерилизация	Более 115°C	Асептическое приготовление	121°C
Хранение	Только в замороженном состоянии	+4°C – 1 мес. -18°C – 2 года	Более года при комнатной температуре
Средняя величина частиц в мкм		0,07 (до 0,25)	0,25 (до 0,9)
Относительная вязкость	3,8	2,5 (4,5*)	30
Содержание O ₂ (об.%)	7,0	7,0 (20,0*)	25,0
Динамическая емкость O ₂	1,8	2,8 (4,4*)	0,83
Процент частиц более 0,5 мкм	1,0	0,0	0,2-9,5
Рост лимфобластоидных клеток человека Raji (в % от контроля)		50-95	0-44
Эмульгаторы (ПАВ)		Проксанол – 4%	Фосфолипид яичного желтка

Примечание: ПФД – перфтордекалин, ПФМЦП – перфторметилциклогексил-пиперидин, ПФТПА – перфтортрипропиламин, Оксигент (ПФОБ – перфтороктилбромид + перфтордекалинбромид). В скобках (*) приведены соответствующие параметры крови

Наиболее существенные черты специфики кислородтранспортной функции перфторорганических соединений следующие:

1. Усиление газообмена и диффузии O₂ и CO₂ в зонах нарушения микроциркуляции, недоступных для эритроцитов.

2. Субмикронный размер частиц эмульсии обеспечивает резкое повышение поверхности газообмена (более чем в 10 раз) и скорости процессов оксигенации и деоксигенации эмульсий.

3. Наличие стабилизатора перфторуглеродов проксанола. Последний снижает вязкость крови, тормозит агрегацию эритроцитов и адгезию с эндотелием капилляров, уменьшает ригидность мембран эритроцитов [Smith C. et al., 1987] и снижает эффект вазоконстрикторов [Saeed M. et al., 1987].

Отмечено существенное повышение потребления O_2 изолированным перфузируемым сердцем собаки при помещении его в перфторан. Так, при исходном потреблении кислорода $10,14 \pm 0,9$ мл/мин/100 г через 5 часов после перфузии потребление O_2 составляло $6,56 \pm 0,9$ мл/мин/100 г, тогда как при перфузии аутокровью потребление миокардом составляет 3,5-5,5 мл/мин/100 г [Чилая С.М. и др., 1984].

При коронароокклюзионной ишемии миокарда собаки инфузия перфторана (10 мл/кг) приводила к увеличению коронарного кровотока в среднем с 56% исходного уровня до 80%, снижению сопротивления коронарных сосудов со 180 до 135% и повышению потребления кислорода с 32,0 до 70,8% [Воробьев С.И., 1995].

Сосудистые эффекты перфторана в значительной степени связаны с влиянием проксанола на гемореологические показатели [Ладиллов Ю.В. и др., 1992].

Перфузия изолированного сердца кролика эмульсией ПФМЦП повышала также потребление кислорода, положительно влияла на уровень коронарного кровотока и резко снижала содержание лактата (с $7,5 \pm 0,8$ при 4-часовой перфузии раствором Кребса до $1,33 \pm 0,3$) при повышении амплитуды сокращений с $48 \pm 6,0\%$ в контроле до $113,4 \pm 8,0\%$ [Воробьев С.И. и др., 1991].

Анализ инотропного действия перфторорганических соединений позволил установить, что эффект определяется в основном содержанием в них перфтордекалина, наиболее растворимого в липидах. Этот эффект в значительной степени связан с повышением чувствительности β -адренорецепторов.

Токсичность современных перфторорганических соединений при определении на мышах, крысах и морских свинках, собаках и обезьянах весьма низка и обеспечивает широкий диапазон безопасного применения их как кислородпереносящих жид-

костей [Воробьев С.И., 1995; Ковеленов А.Ю. и др., 2001; RiessJ.G. etal., 1995].

Однако при длительном применении перфторорганических соединений ряд аспектов токсикологии, таких как тератогенный эффект, влияние на ретикуло-эндотелиальную и выделительную системы заслуживает дальнейшего исследования.

5.3 Персульфат натрия как донатор кислорода

В качестве потенциальных донаторов кислорода рассматриваются пероксидные соединения, содержащие группу $-O-O-$. К ним относятся пероксиды (Na_2O_2), подпероксиды (NaO_2), пероксигидраты и перкислоты. Последние называются также пероксикислотами и надкислотами. Пероксидные соединения широко используются в промышленности как источники кислорода (“кислородные батареи”), отбеливатели, инициаторы полимеризации и во многих других ситуациях.

В биологическом плане наиболее изучена пероксидисерная кислота. Еще в 1938 г. в HagersHandbuchderPharmaceutischenPraxis натриевая соль пероксидисерной кислоты упоминается как антисептик для наружного применения и средство для повышения аппетита. Более поздние исследования связаны с циклом работ Л.Л. Ванникова и его сотрудников (1965-1981гг.), обосновавших целесообразность доклинического исследования фармакологической активности персульфата натрия как перспективного донатора кислорода. Это заключение базируется на физико-химических свойствах персульфата натрия и ранее полученных данных о высокой активности препарата при ишемии и гипоксических состояниях миокарда, турникетном шоке, а также при гипоксии, сопутствующей развитию лучевой болезни и онкопатологии [Ванников Л.Л., 1981; Левандовский В.И. и др., 1981].

ПСН представляет собой комбинацию основного действующего вещества – пероксидисульфата натрия и активатора его распада – гидроксисульфата натрия в соотношении 98,8 и 1,2%. Пероксидисульфатный ион $S_2O_8^{2-}$ состоит из двух радикалов SO_4^- , связанных ковалентной перекисной связью $-O-O-$ с расстоянием между кислородными атомами 1,46 Å (рис.46).

Ион $S_2O_8^{2-}$ может диссоциировать с симметричным разрывом перекисной связи и образованием двух анион-радикалов $SO_4^{\cdot -}$

Второй, несимметричный путь диссоциации $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$, катализируемый водородными ионами, приводит к образованию бирадикала $\text{SO}_4\cdot$. Электронакцепторная активность радикалов $\text{SO}_4\cdot$ и $\text{SO}_4\cdot$ составляет 1 и 2 электрона, соответственно.



Таким образом, ПСН может рассматриваться как высокоактивная электроакцепторная система – донатор кислорода с pH -зависимой активацией. Кроме того, определенный интерес в плане пролонгации действия ПСН представляет способность этого соединения образовывать полимеры [Амирагова М.Н., 1981].

221

но и выраженный наркотический эффект. Контрольным животным вводили внутривенно 0,9% раствор натрия хлорида.

Во всех сериях опытов эффективность антигипоксического действия ПСН оценивалась по значениям коэффициентов защиты (K_3) и сравнительной активности (K_{ca}).

$K_3 = T_{оп} / T_k$ (%), где $T_{оп}$ и T_k – продолжительность жизни, соответственно, опытных и контрольных животных (в мин.).

$K_{ca} = T_{оп} \times T_k / T_{эт} \times T_k$ (%), где $T_{эт}$ – время жизни животных при введении им эталонного препарата T (в мин.).

Кроме того, определялись ED_{50} и противогипоксический индекс (LD_{50}/ED_{50}), а также учитывалось число животных, выживших к концу наблюдения. Для оценки роли натрия гидросульфата в формировании противогипоксического действия ПСН, представляющего собой смесь персульфата натрия с натрия гидросульфатом в соотношении 98,8:1,2, проведены эксперименты с изолированным профилактическим введением персульфата натрия. Как следует из таблицы 45, персульфат натрия обладает противогипоксическим действием как при введении смеси с гидросульфатом натрия, так и при изолированном введении. Однако более низкие значения коэффициента защиты (K_3) и коэффициента сравнительной активности (K_{ca}), отмеченные в экспериментах с изолированным введением персульфата натрия (табл. 45), свидетельствуют о важной роли натрия гидросульфата в формировании защитного действия ПСН.

Таблица 45. – Сравнительная характеристика противогипоксического действия ПСН и персульфата натрия при введении в дозе 60 мг/ кг [Казаченко Т.М., 1996]

Модель гипоксии	K_3 , % ПСН	K_3 , % Персульфат натрия	K_{ca} , % ПСН	K_{ca} , % Персульфат натрия
ОГКГ (n=7)	272	208	121	75
ОГЕК (n=10)	271	159	209	153
ОГТГ (n=7)	300	240	167	133
АОЛ (n=10)	622	267	431	185
ОА (n=10)	280	200	200	143

Примечание: ОГКГ, ОГЕК, ОГТГ, – соответственно, острая гиперкапническая, гемическая и гистотоксическая гипоксия; АОЛ- адреналиновый отек легких; ОА – острая аноксия; K_{ca} – в сравнении с активностью оксигенирующего

Сравнение ED_{50} и противогипоксических индексов (LD_{50}/ED_{50}) ПСН указывает на близость значений этих параметров в опытах с гипобарической, гиперкапнической и гемической гипоксиями (табл. 46).

Анализ экспериментальных данных позволяет сделать заключение о высокой противогипоксической активности ПСН при большой широте его терапевтического действия. Это заключение подкрепляется результатами экспериментов с моделированием острой аноксии, в которых отмечено увеличение времени биоэлектрической активности сердца.

Таблица 46. – Сравнительная характеристика защитного действия ПСН при разных моделях гипоксии

Модель гипоксии	ED_{50} , мг/кг	K_{ca} , %	LD_{50}/ED_{50}
ОГБГ (n=35)	53	225	12
ОГКГ (n=60)	60	121	11
ОГЕГ (n=30)	47	209	14
ОГТГ (n=24)	8	167	82
АОЛ (n=21)	34	431	19

Примечание: ОГБГ – острая гипербарическая гипоксия; ОГКГ, ОГЕГ, ОГТГ, – соответственно, острая гиперкапническая, гемическая и гистотоксическая гипоксия; АОЛ – адреналиновый отек легких; K_{ca} % – в сравнении с активностью оксибутирата

Известно, что положительное влияние антигипоксантов на продолжительность биоэлектрической активности сердца при асфиксии хорошо коррелирует с противоишемическим действием этих соединений [Гацура В.В., 1988]. По тесту продолжительности биоэлектрической активности сердца в условиях аноксии ПСН дает умеренный, но достоверный антигипоксический эффект, близкий к активности известного эталонного антигипоксанта оксибутирата натрия (табл. 47).

Таблица 47. – Антигипоксическое действие ПСН при асфиксии

№ п/п	Исследуемое вещество	n	Доза мг/кг	Время сохранения биопотенциалов сердца в мин.
1	Контроль	10	–	$10,0 \pm 1,0$
2	ПСН	10	20	$13,9 \pm 0,2^*$
3	Оксибутират натрия	10	200	$13,1 \pm 0,3^*$

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Исследование ПСН в дозе 20 мг/кг внутрибрюшинно в условиях острой аноксии показало, что препарат оказывает стабильный умеренный противогипоксический эффект и близок по активности к оксibuтирату натрия и такому классическому антигипоксанту, как цитохром с.

Представленные выше материалы по изучению противогипоксической активности ПСН на разных моделях гипоксии свидетельствуют о его высокой защитной активности при острой гипобарической гипоксии и достаточно стабильном протекторном эффекте по тесту продолжительности биоэлектрической активности сердца в условиях острой асфиксии.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ПСН может быть отнесен к группе универсальных антигипоксантов.

Наблюдаемый при острой гипобарической гипоксии защитный эффект возрастал с повышением дозы ПСН с 10 до 50 мг/кг, имел видовую специфику, в частности был сильнее выражен у крыс. Слабовыраженный защитный эффект ПСН при медленно развивающейся гиперкапнической гипоксии можно связать со спецификой его фармакокинетики. Дальнейший анализ результатов исследований ПСН при гемической гипоксии требует учета видовой чувствительности используемых животных и уточнения схемы дозирования препарата.

Учитывая, что избыток кальция может стимулировать ПОЛ, было проведено исследование профилактического действия ПСН на течение хлоридкальциевой интоксикации, сопряженной с повышением ПОЛ (табл. 48).

В контрольных опытах хлоридкальциевая интоксикация (200 мг/кг внутривенно) развивалась практически сразу после введения раствора и характеризовалась появлением желудочковых экстрасистол и атриовентрикулярной блокады. В некоторых опытах отмечалась пароксизмальная тахикардия с последующей фибрилляцией желудочков (через 50-60 сек после инъекции хлорида кальция) и гибелью животных. Время жизни крыс в контроле составляло 60 сек что соответствует данным литературы [Шейх-Заде Ю.Р. и др., 1988].

Как следует из представленных в таблице 48 данных, ПСН при профилактическом внутрибрюшинном введении в возрастающих дозах (от 20 до 60 мг/кг) оказывал дозозависимый за-

щитный эффект, хотя и менее выраженный, чем при аконитиновой интоксикации.

У выживших животных с предварительным введением ПСН летальная доза кальция хлорида приводила лишь к развитию умеренной брадикардии, переходящей в нормальный синусовый ритм.

Таблица 48. – Защитный эффект ПСН при аконитиновой (А) и хлоридкальциевой (Б) интоксикации

Доза (мг/кг)		n	Число выживших крыс	Время жизни погибших крыс, мин. ($M \pm m$)
Контроль	А	7	-	$12 \pm 1,4$
	Б	6	-	$1 \pm 0,6$
20	А	8	1	$68 \pm 6,1$
	Б	7	1	$7 \pm 1,5$
40	А	10	8	$91 \pm 6,0$
	Б	7	4	$15 \pm 1,1$
60	А	9	8	$97 \pm 11,4$
	Б	8	5	$22 \pm 2,2$

Примечание: * - $p < 0,05$

Наряду с выраженным антигипоксическим действием ПСН важным аспектом его фармакологической активности является кардиопротекторный эффект при острой ишемии миокарда.

Эксперименты по изучению действия ПСН на размеры зоны ишемии и некроза после 4-часовой окклюзии коронарной артерии были проведены на 40 крысах, наркотизированных эфиром [Казаченко Т.М., 1996]. Размеры зоны ишемии и некроза после окклюзии коронарной артерии у крыс определяли с помощью дифференциального индикаторного метода [Сернов Л.Н., Гацура В.В., 1989]. Данные о влиянии ПСН на размеры зон ишемии и некроза при 4-часовой окклюзии коронарной артерии у крыс представлены в таблице 49. ПСН вводили внутривентрикулярно в течение 4 дней до окклюзии коронарной артерии в виде 1% раствора в дозах 20, 40, 60 мг/кг (последняя инъекция – за 30 мин. до окклюзии).

Результаты этой серии экспериментов свидетельствуют о том, что ПСН обладает выраженным дозозависимым противоишемическим эффектом.

При однократном введении ПСН в дозе 20 мг/кг также наблюдались статистически достоверное уменьшение размеров некроза по тесту соотношения зоны инфаркта к зоне ишемии и более выраженная тенденция к ограничению зоны некроза (табл.50).

По интенсивности противоишемического действия (отношение зоны некроза к зоне ишемии) ПСН ($33,9 \pm 7,0\%$) стоит в ряду таких эффективных кардиотропных средств, как пропранолол ($39,0 \pm 5,5\%$), верапамил ($41,0 \pm 14,1\%$) и цитохром с ($32,0 \pm 3,4\%$) при значении данного показателя $62,3 \pm 4,6\%$ в контроле.

Таблица 49. – Влияние предварительного курсового введения ПСН на размеры зоны ишемии и некроза миокарда при 4-часовой окклюзии коронарной артерии у крыс ($M \pm m$)

Доза мг/кг	n	Зона некроза в % к общей массе миокарда	Зона ишемии в % к общей массе миокарда	Зона некроза в % к зоне ише- мии
20	10	$16 \pm 1,6^*$	$25 \pm 2,2^*$	$64 \pm 3,1^*$
40	10	$12 \pm 2,7^*$	$21 \pm 3,3^*$	$52 \pm 5,1^*$
60	10	$9 \pm 1,8^*$	$23 \pm 2,9^*$	$38 \pm 6,2^*$
Контроль	10	$31 \pm 5,0$	$41 \pm 4,2$	$72 \pm 6,9$

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Таблица 50. – Влияние ПСН на размеры зоны инфаркта при введении препарата за 20 минут до перевязки (а) и непосредственно после окклюзии коронарной артерии (б)

Препарат. Серия опытов	Доза в мг/кг	n	Зона ишемии в % общей массы мио- карда	Зона некроза в % общей массы миокарда	Зона некр- роза в % зоны ише- мии
Контроль	-	10	$30,4 \pm 3,3$	$18,6 \pm 1,8$	$62,3 \pm 4,6$
ПСН а)	2	7	$28,8 \pm 3,0$	$13,3 \pm 2,5$	$45,7 \pm 8,0$
ПСН а)	20	7	$30,1 \pm 2,9$	$10,7 \pm 2,6$	$33,9 \pm 7,0^*$
ПСН б)	2	7	$23,6 \pm 3,2$	$13,5 \pm 2,4$	$54,3 \pm 5,7$
ПСН б)	20	6	$24,6 \pm 4,9$	$10,0 \pm 3,2$	$40,0 \pm 6,1^*$

Примечание: * – различия с контролем достоверны при $p < 0,05$

Влияние ПСН на параметры гемодинамики и сократительной функции сердца при острой ишемии миокарда было исследовано в опытах на собаках [Казаченко Т.М., 1996].

На 10 беспородных собаках массой 10-25 кг под этаминал-натриевым наркозом регистрировали левожелудочковое давление, dp/dt и другие параметры деятельности сердца. ПСН в дозах 10 (5 опытов) и 20 мг/кг (5 опытов) вводили внутривенно через 5 минут после коронарной окклюзии.

Препарат в дозе 10 мг/кг на протяжении всего периода наблюдения вызывал стабилизацию АД на уровне, близком к исходному. Максимальное снижение этого параметра происходило на 60-й мин наблюдения (на $11,3 \pm 4,2\%$), тогда как в контроле данный показатель через 60 минут после окклюзии коронарной артерии был ниже исходного на $30,8 \pm 4,2\%$.

При увеличении дозы ПСН до 20 мг/кг падение АД, характерное для контроля, становилось еще менее выраженным.

Учитывая, что ПСН не оказывал прессорного действия в опытах на интактных крысах и не влиял на частоту сердечных сокращений, можно сделать заключение о том, что исследуемое соединение оказывает положительное действие на сократимость миокарда. Очевидно, этот эффект частично обусловлен уменьшением зоны ишемии и некротического поражения миокарда после окклюзии коронарной артерии. Динамика левожелудочкового давления, в целом повторяющая сдвиги АД, подкрепляет это заключение.

Представляется важным отметить положительное влияние ПСН на скорость сокращения и расслабления ишемизированной сердечной мышцы. Значения $dp/dt_{\max}$ и $dp/dt_{\min}$ после введения препарата в дозах 10 и 20 мг/кг существенно не отличались от зарегистрированных на 5-й минуте после коронарной окклюзии показателей при довольно резком падении этих параметров в контроле.

Таким образом, полученные данные указывают на то, что противоишемическое действие ПСН, выразившееся в уменьшении зоны ишемии и некроза миокарда, а также повышении оксигенации интактного миокарда, способствует сохранению сократимости сердечной мышцы и стабилизации системного артериального давления.

В связи с защитным действием ПСН при патологических состояниях миокарда, сопряженных с повышением уровня ПОЛ, проведено исследование антиоксидантной активности ПСН на гомогенатах ишемизированного миокарда крыс. Острую ишемию миокарда вызывали 2-часовой перевязкой передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии. Динамику показателей ПОЛ исследовали в интактном и ишемизированном миокарде. Препарат вводили внутривенно через 3-5 минут после перевязки коронарной артерии. Регистрировали интенсивность быстрой вспышки Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции, латентный период медленной вспышки, скорость развития медленной вспышки и ее светосумму. Определяли также концентрацию МДА в исходном состоянии и после индуцирования ПОЛ ионами железа.

Как следует из полученных данных, введение ПСН несколько повышает в интактном миокарде интенсивность быстрой вспышки, а также увеличивает латентный период развития медленной вспышки и уровень содержания МДА в гомогенате миокарда. В ишемизированном миокарде ПСН достоверно тормозит скорость развития медленной вспышки и ее светосумму. Отмечена также тенденция к снижению железоиндуцированного подъема содержания МДА.

По этим показателям активность ПСН приближается к уровню активности такого косвенного антиоксиданта как фруктозо-1,6-дифосфат.

Представленные выше данные свидетельствуют о высокой антигипоксической активности ПСН и его выраженном противоишемическом кардиопротекторном действии при острой ишемии миокарда. Эти материалы, а также полученная информация об антиоксидантном эффекте препарата, указывают на перспективность дальнейшего изучения ПСН в полном объеме доклинического экспериментального исследования в соответствии с современными требованиями.

Представляется особо важным исследование фармакокинетики ПСН и разработка оптимальных схем его дозирования.

Исследование острой токсичности ПСН и практика применения отдельных компонентов препарата в фармации и пищевой промышленности [Лазарев Н.В., 1977; Nag-

er'sHandbuchderPharmaceutischenPraxis, 1938 и др.] позволяют полагать, что токсикологические свойства ПСН, в частности отдаленные последствия его применения, не будут препятствием к его внедрению в медицинскую практику.

Репозиторий ГРГМУ

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассматривая современное состояние фармакотерапии ИБС, условно можно выделить три основных аспекта лекарственных воздействий:

- 1) оптимизация традиционной классической фармакотерапии ИМ и его осложнений;
- 2) область инновационной базовой терапии и вспомогательной индивидуализированной фармакотерапии (метаболическая терапия, генная терапия и др.);
- 3) некоторые ключевые направления совершенствования современной фармакотерапии (активация кислородтранспортной функции крови, энергообеспечение выживаемости ишемизированного миокарда, микроциркуляция).

Особую проблему представляет фармакопрофилактика ИБС с использованием антиатеросклеротических препаратов, противоишемических средств, антиагрегантов, а также факторов дозированной физической нагрузки, гипоксического тренинга (прекондиционирования) и др.

Основные направления экспериментальной фармакотерапии острой ишемии миокарда, на которых концентрируется внимание фармакологов и специалистов, работающих в области экспериментальной и клинической кардиологии, в схематической форме представлены на рисунке 47.

Повышение эффективности использования известных и разрабатываемых противоишемических лекарственных средств в значительной мере связано с учетом их влияния на КТФ крови, ДЭ и ПОЛ. Не менее существенным представляется анализ роли сдвигов SGK, ДЭ и ПОЛ в патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы. Следует признать, что исследование этой проблемы, а также изучение влияния сопутствующей патологии на КТФ крови находится на самой начальной стадии.

С другой стороны, совершенно недостаточен учет индивидуальных особенностей и динамики параметров SGK, ДЭ и ПОЛ в связи с отсутствием их регистрации при медико-лабораторной паспортизации этой категории пациентов. В частности, исследование SGK является важным диагностическим тестом не только в диагностике гемоглобинопатий, но и при построении рациональ-

ной тактики лечения пациентов с клинически выраженной гипоксией, ишемией миокарда и головного мозга. Снижение ДЭ, наблюдаемое у пациентов с ИБС, отмечается у лиц с факторами риска ИБС (СД, гиперхолестеринемия, АГ, курение) и повышенной метеочувствительностью. Здесь уместно отметить, что при микроангиопатиях (СД, "микровазкулярная стенокардия") даже незначительные колебания ДЭ способны существенно влиять на оксигенацию тканей.



Рисунок 47. – Современные аспекты экспериментальной фармакотерапии острых форм ИБС

Существенный интерес в этом плане представляют данные эритроцитометрии, позволяющие расширить возможности ранней диагностики целого ряда патологических состояний не только в гематологии, но и в общей клинической практике. С этой точки зрения представляется весьма перспективным использование автоматических анализаторов крови.

Развитие исследований в данном направлении требует более широкого внедрения в практику клинико-экспериментальных исследований методов определения СГК, ДЭ, эритроцитометрии и антиоксидантного статуса пациентов. Несмотря на приоритет отечественных исследователей в разработке доступных для воспроизводства методических установок [Эпштейн И.М., 1975; Плотников М.Б. и др., 1989; Белкин А.В., 1991; Фирсов Н.Н. и др., 1991; Атауллаханов Ф.И. и др., 1994; Пятницкий А.М. и др., 1997; Лисовская И.Л. и др., 1999; Гукасов В.М., 2004] экспериментальные медико-биологические лаборатории испытывают острейший дефицит приборов для проведения соответствующих исследований, а клиники — для осуществления медико-лабораторной паспортизации и оценки эффективности лекарственной терапии с учетом динамики параметров СГК, ДЭ и ПОЛ.

Поиск и доклиническое исследование специфической активности потенциальных противоишемических средств предполагает использование комплекса разнообразных методических приемов оценки их влияния на кислородтранспортную функцию крови.

Особое значение для исследования компенсаторных механизмов при ИБС имеет моделирование и использование в терапии феномена "preconditioning", а также изучение возможностей генной терапии.

Исследование противоишемических средств с использованием указанного выше комплекса методов позволяет охарактеризовать их кардиопротекторное действие и возможные побочные эффекты на более высоком научно-методическом уровне, чем это имеет место в традиционной современной фармакологической практике (рис.48).

Одной из актуальных проблем повышения эффективности применения противоишемических средств является также разработка систем их направленного транспорта в зону ишемии миокарда. Как отмечалось ранее, в зоне ишемии развивается метаболический ацидоз со сдвигом pH на 0,3-0,5. Это обстоятельство переводит проблему направленного транспорта лекарственных противоишемических средств в плоскость практической разработки pH -зависимых кондукторов кардиопротекторных веществ

или синтеза комплексных соединений, диссоциирующих в кислой среде с высвобождением лекарственных агентов.

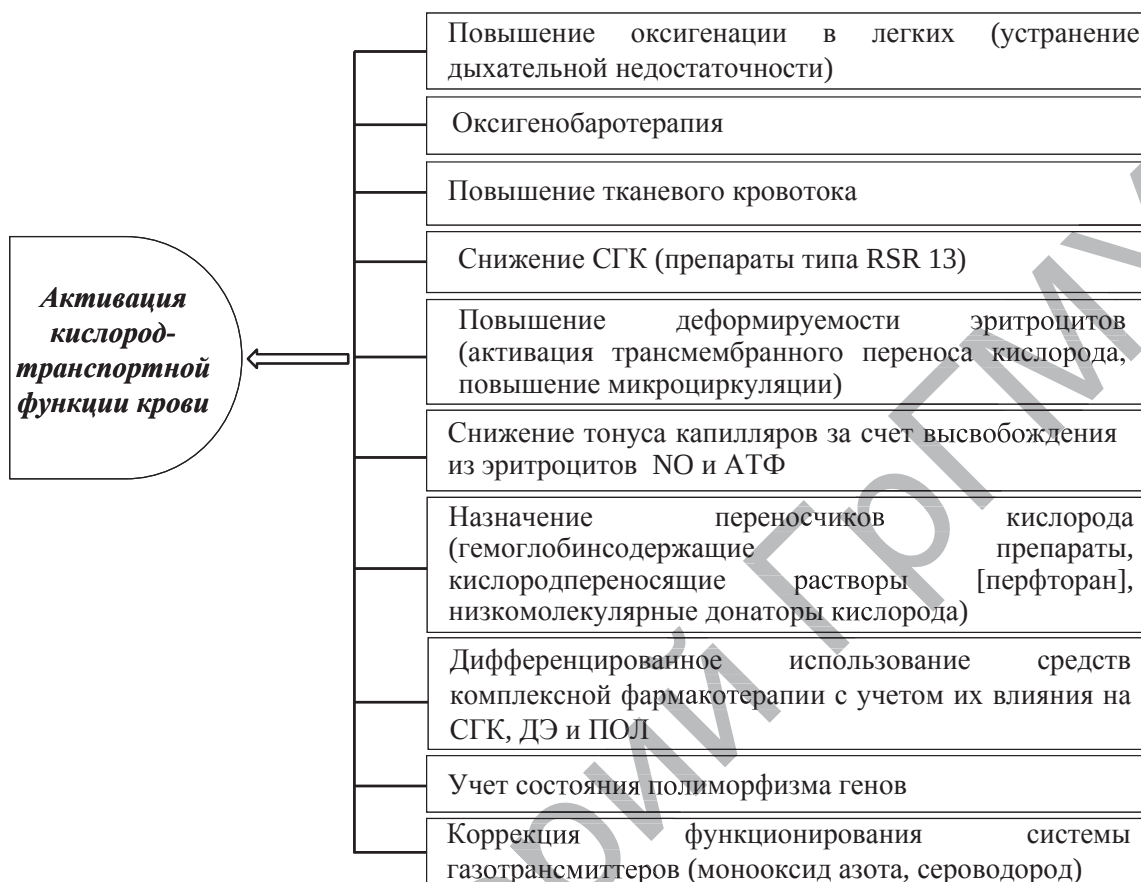


Рисунок 48. – Схема основных современных направлений активации кислородтранспортной функции крови и оптимизации фармакотерапии ИБС

На современном этапе поиска новых средств фармакотерапии ИБС весьма перспективными являются также исследования по разработке стереоселективных кардиотропных средства в ряду эутомеров и "предпочтительных" конформеров с более высокой специфической активностью и широтой терапевтического действия.

Нам представляется, что обобщенные в монографии материалы о новых позитивных свойствах ряда фармакологических средств и НЭЛИ могут привлечь внимание клинических фармакологов и кардиологов в плане разработки новых схем совершенствования индивидуализированной фармакотерапии ИБС с учетом особенностей влияния лекарственных препаратов на СГК, ДЭ, ПОЛ и микроциркуляцию в ишемизированных тканях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрашкина Е.Д. и др. Влияние аторвастатина на гемореологические параметры больных артериальной гипертонией с дислипидемией // Кардиология. – 2010. – С. 25–28.
2. Агаджанян Н.А., Стрелков Р.Б., Чижов А.Я. Прерывистая нормобарическая гипокситерапия. М., 1997. – 304 с.
3. Алексеев Ю.В. Коррекция патогенетических нарушений внеклеточных компонентов соединительной ткани на основе лечебного воздействия лазерного облучения в терапии хронических заболеваний. Автореф. дис...д-ра мед. наук. – М., 1998. – 47 с.
4. Амирагова М.И. Об окислительных свойствах персульфатов // Тканевая гипоксия и ее коррекция. Изд. "Наука". – Новосибирск, 1981. – С. 1–79.
5. Анохина Е.Б., Буравкова Л.Б. Механизмы регуляции транскрипционного фактора HIF при гипоксии // Биохимия. – 2010. – Т. 75, № 2. – С. 185–195.
6. Аронов А.М., Лупанов В.П. Дифференцированное применение нитратов при ишемической болезни сердца в зависимости от клинической формы и тяжести заболевания // Кардиология. – 2006. – Т. 46, № 1. – С. 74–83.
7. Артюхов В.Г., Вашанов Г.А. Серотонин как фотопротектор кислородтранспортной функции гемоглобина // Биофизика. – 1993. – Т. 38, № 4. – С. 580–583.
8. Артюхов В.Г., Вашанов Г.А., Лавриненко И.А. Влияние серотонина и УФ-света на кислородтранспортные свойства гемоглобина человека // Материалы Международн. научн. конф. – Гродно. – 1993. – Ч.1. – С. 7–8.
9. Арушанян Э.Б., Бейер Э.В. и др. Влияние мелатонина на некоторые гематологические показатели у здоровых людей // Экспер. и клинич. фармакология. – 2006. – Т. 69, № 5. – С. 36–38.
10. Архипенко Ю.В., Сазонтова Т.Г. Роль про- и антиоксидантных факторов при адаптации к различным видам гипоксии // Мат. междунар. симп. "Кислород и свободные радикалы". – Гродно, 1996. – С. 7–8.
11. Атауллаханов Ф.И., Витвицкий В.М., Лисовская И.Л., Тужилова Е.Г. Анализ геометрических параметров и механических свойств эритроцитов методом фильтрации через мембранные

ядерные фильтры. 1. Математическая модель // Биофизика. – 1994. – Т. 39, № 4. – С. 672–680.

12. Бабушкина Г.В., Кармелитов А.В. Динамика жирокислотного состава фосфолипидов альфа-липопротеинов крови у больных ишемической болезнью сердца на фоне гелий-неоновой лазерной терапии // Лазерная медицина. – 2000. – Т. 4, № 1. – С. 5–7.

13. Балбатун О.А., Жмакин И.К. Изменение кислородно-транспортной функции крови в динамике эстрального цикла у крыс // Физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 1996. – Т. 82, № 7. – С. 130–137.

14. Балбатун О.А., Слободская Н.С., Троян Э.И. p_{50} и уровень эстрадиола в различные фазы эстрального цикла у крыс // Материалы междунаrodn. научн. конф. – Гродно. – 1993. – Ч. 1. – С. 9–10.

15. Балыкин М.В., Каркобатов Х.Д. Системные и органые механизмы кислородного обеспечения организма в условиях высокогорья // Российский физиол. журн. – 2012. – № 1. – С. 127–136.

16. Барабой И.А., Белошицкий П.В., Красюк А.Н. и др. Кислородзависимые процессы в облучённом организме // Физиол. журн. – 1994. – Т. 40, № 3–4. – С. 116–128.

17. Белкин А.В., Сторожок С.А., Катюхин Л.Н. Эктацитометрия – объективный метод оценки способности эритроцитов к деформации // Физиол. журн. – 1991. – Т. 77, № 1. – С. 133–138.

18. Белоярцев Ф.Ф. (ред.) Фторуглеродные газопереносящие среды. Сб. научн. тр., Пушино. – 1984. – 179 с.

19. Березовский В.А., Сушко Б.С. Профиль концентрации кислорода в клетке и некоторые спорные вопросы перемещения свободного кислорода в биологических объектах // Физиологический журнал. – 1984. – Т. 30, № 3. – С. 345–353.

20. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. М.: Медицина. – 1989. – 368 с.

21. Биленко М.В. Биологические аспекты аллотрансплантаций почки. – М.: Медицина. – 1978. – 384 с.

22. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). – М.: Медицина, 1989. – 267 с.

23. Бобров В.А., Залесский В.Н. Лазерная коррекция нарушений ритма сердца // Кардиология. – 1990. – Т. 30, № 12. – С. 76–79.

24. Болдырев А.А. Парадоксы окислительного метаболизма мозга // Биохимия. – 1995. – Т. 60, № 9. – С. 1536–1542.

25. Бондаренко И.З. и др. Метаболические изменения в кислородтранспортной системе у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. Возможности коррекции // Ожирение и метаболизм. – 2009. – № 2. – С. 24–28.

26. Борисенко Г.Г., Осипов А.Н., Казаринов К.Д. и др. Фотохимические реакции нитрозилгемоглобина под действием низкоэнергетического лазерного облучения // Биохимия. – 1997. – Т. 62, № 6. – С. 774–780.

27. Борисюк М.В. Сродство гемоглобина к кислороду в крови, оттекающей от сердца // Кардиология. – 1981. – Т. 21, № 4. – С. 94–97.

28. Борисюк М.В. Особенности регуляции кислородсвязующих свойств крови в процессе ее циркуляции // Усп. физиол. наук. – 1984. – Т. 15, № 2. – С. 3–26.

29. Борисюк М.В. Системные механизмы антиоксидантной защиты // Тез. докл. IX съезда белорусского общества физиологов. – Минск, 1996. – С. 35.

30. Борисюк М.В. Системный анализ механизмов регуляции сродства крови к кислороду // Успехи физиол. наук. – 1984. – Т. 15, № 2. – С. 3–26.

31. Борисюк М.В. Системный анализ механизмов регуляции сродства крови к кислороду. I. Внутриэритроцитарная регуляция сродства гемоглобина к кислороду // Усп. физиол. наук. – 1983. – Т. 14, № 1. – С. 89–101.

32. Борисюк М.В., Корнейчик В.Н., Рожко А.В., Янкелевич Ю.Д. Гемический компонент системы транспорта кислорода в регуляции процессов перекисного окисления липидов // Система транспорта кислорода. – Гродно, 1989. – С. 6–13.

33. Борисюк М.В., Добродей М.А., Дремза И.К., Зинчук В.В. Сродство гемоглобина к кислороду. В кн.: Методы исследования массопереноса в системе микроциркуляции. – Новосибирск. Наука. – 1991. – С. 156–162.

34. Борисюк М.В., Зинчук В.В. Повышение терморезистентности организма путем изменения роли сродства гемоглобина к кислороду в прооксидантно-антиоксидантном равновесии // Материалы Международн. научн. конф. – Гродно. – 1993. – Т. 1. – С. 13–14.

35. Борисюк М.В., Зинчук В.В., Корнейчук В.Н., Галушко И.Н. Взаимоотношения сродства гемоглобина к кислороду и перекисного окисления липидов при лихорадке // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1994. – Т. 114, № 7. – С. 27–30.

36. Бриль Г.Е., Бриль А.Г. Гуанилатциклаза и NO-синтетаза – возможные первичные акцепторы энергии низкоинтенсивного лазерного излучения // Лазерная медицина. – 1997. – Т. 1, № 2. – С. 39–42.

37. Буко И.В. и др. Редокс-свойства крови пациентов с впервые выявленным сахарным диабетом 2-го типа и ишемической болезнью сердца // Здоровоохранение. – 2012. – № 3. – С. 4–7.

38. Бурлакова Е.Б. Молекулярные механизмы действия антиоксидантов при лечении сердечно-сосудистых заболеваний // Кардиология. – 1980. – Т. 20, № 8. – С. 48–52.

39. Бурлакова Е.Б. Исследование синтетических и природных антиоксидантов *in vitro* и *in vivo*. – М.: Наука. – 1992. – 110 с.

40. Бурлакова Е.Б., Алесенко А.В., Молочкина Е.М. и др. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. М.: Наука, 1975. – 211 с.

41. Ванин А.Ф. Оксид азота: регуляция клеточного метаболизма без участия системы клеточных рецепторов // Биофизика. – 2001. – Т. 46, № 4. – С. 631–641.

42. Ванников Л.П. Антигипоксическое действие ПСН/В кн.: Тканевая гипоксия и ее коррекция. – Новосибирск, 1981. – С. 4–27.

43. Васильев А.П., Стрельцова Н.Н., Сенаторов И.Н., Мирнова Н.А. Динамика содержания липидов крови у больных ишемической болезнью сердца в процессе многократных курсов лазеротерапии на фоне приема анаприлина и верапамила // Клини.мед. – 1997. – Т.75. – №9. – С.53–55.

44. Васильева И.Ф. Состояние мембран и антиоксидантных систем эритроцитов человека при лазерном облучении. Автореф. дис. ...канд. биол. наук. – М., 1995. – 22 с.

45. Вахляев В.Д., Смирнова И.Е., Учайкина Л.В. и др. Влияние трансвенозной лазерной терапии на состояние перекисного окисления липидов у больных ишемической болезнью сердца // Кардиология. – 1992. – Т. 32, № 7–8. – С.43–45.

46. Виноградов В.М., Урюпов Ю.Ю. Гипоксия как фармакологическая проблема // Фармакол. и токсикол. – 1985. – Т. 48, № 4. – С.9–20.

47. Виноградов С.М., Ярочкин В.С. Оценка газотранспортной функции человеческих эритроцитов на модели изолированного сердца крысы // Пат.физиол. и эксп. тер. – 1987. – № 1. – С. 81–84.

48. Виноградова И.Л., Багрянцева С.Ю., Девиз Г.В. Доступные для клинических исследований методы определения сродства гемоглобина к кислороду в цельной крови // Пробл. гематол. и переливания крови. – 1981. – Т.36, № 6. – С. 26–30.

49. Владимиров Ю.А. Лазерная терапия настоящее и будущее // Соросовский образ. журнал. – 1999. – № 12. – С.2–8.

50. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. Свободные радикалы в живых системах. Итоги науки и техники, серия Биофизика. – М., 1991. – Т. 29. – 250 с.

51. Владимиров Ю.А., Шерстнев М.П. Хемилюминесценция клеток животных. Итоги науки и техники, серия «Биофизика». – М., 1989. – Т. 24. – 176 с.

52. Власов Ю.А., Смирнов О.М. Математическое описание процессов взаимодействия гемоглобина с кислородом. Новосибирск, 1984. – Препринт. 36 с.

53. Воейков В.Л., Новиков К.Н., Сюч Н.И. Изменение хемилюминесценции неразведенной крови больных ишемической болезнью сердца в ходе лазеротерапии // Бюлл. экспер. биол. и мед. – 1998. – Т. 125, № 6. – С. 680–683.

54. Волков В.Я., Гладков Ю.М., Завадский В.К., Иванов В.П. Принципы и алгоритмы определения оксигенации крови по измерениям пульсооксиметра // Мед.техника. – 1993. – № 1. – С.16–21.

55. Воробьев С.И., Иваницкий Г.Р. Физиологическая активность фторсодержащих соединений (эксперимент и клиника). Пущино, 1995. – 246 с.

56. Воробьев С.И., Ладилов Ю.В., Попов Л.А. и др. Влияние химически инертных перфторсоединений (в составе эмульсии) на первичную амплитуду сердечных сокращений // Вестник АМН СССР. – 1991. – № 6. – С. 61–64.

57. Галаган М.Е., Киладзе С.В., Ванин А.Ф. Реакция динитрозильных комплексов негемового железа с диэтилдитиокарбама-том в крови анестезированных крыс: ее специфическое проявление на физико-химическом и физиологическом уровнях // Биофизика. – 1997. – Т. 42, № 3. – С. 687–693.

58. Галенко-Ярошевский П.А., Гацура В.В. Экспериментальные аспекты оптимизации фармакотерапии острой ишемии миокарда. – М.: Медицина. – 2000. – 383 с.

59. Ганелина И.Е., Денисенко А.Д., Катюхин Л.Н. и др. Липиды плазмы крови и реологические свойства эритроцитов у больных со стабильной стенокардией // Кардиология. – 2000. – Т.40, № 8. – С. 62–63.

60. Гарелик П.В., Колешко С.В., Зинчук В.В. Влияние тиотриазолина на механизмы транспорта кислорода кровью и L-аргинин-NO систему при экспериментальном остром панкреатите // Новости хирургии. – 2009. – № 3. – С. 7–15.

61. Гацура В.В. Эндогенные катехоламины при регионарной гипоксии миокарда и пути торможения их кардиотоксического действия // Фармакол. и токсикол. – 1977. – Т.40, № 1. – С. 105–113.

62. Гацура В.В. Энергетический обмен миокарда при острой ишемии и его фармакологическая коррекция // Успехи физиол. наук. – 1981. – Т.12, № 1. – С.97– 118.

63. Гацура В.В. Ингибиторы метаболического ацидоза как противоишемические средства // Всесоюзн. съезд фармакологов, 6-й: Тез. докл. – М., 1988. – С. 86–86.

64. Гацура В.В. Коллатеральное коронарное кровообращение и проблема его фармакологической регуляции // Успехи физиол. наук. – 1990. – Т. 21, № 3. – С.19–37.

65. Гацура В.В. Метаболиты пентозофосфатного цикла как энергообеспечивающие противоишемические средства // Фармакол. и токсикол. – 1991. – Т.54, № 4. – С.4–8.

66. Гацура В.В. Проблема повышения жизнеспособности ишемизированного миокарда в экспериментальном освещении // Кардиология. – 1975. – Т.15, № 2. – С. 114–124.

67. Гацура В.В. Фармакологическая регуляция коллатерального коронарного кровообращения. – М.: Медицина, 1969. – 152 с.

68. Гацура В.В. Метаболиты энергетического обмена и электронакцепторные системы как антигипоксантаы // Всесоюзн. конф. "Фармакологическая коррекция гипоксических состояний". Тез. докл. – М., 1988. – С. 31–31.

69. Гацура В.В. Фармакологическая коррекция энергетического обмена ишемизированного миокарда. – М. – 1993. – 254 с.

70. Гацура В.В., Гацура С.В. Фармакологическая коррекция сродства гемоглобина к кислороду в условиях ишемии // Фармакол. и токсикол. – 1982. – Т.45, № 3. – С. 115–120.

71. Гацура С.В., Гацура В.В. Проблемы регуляции кислород-транспортной функции крови в кардиологии. – М.: Компания путник, 2005.. – 144 с.

72. Гацура В.В., Гукасов В.М., Мезенцева В.С. и др. Методы углубленного фармакологического исследования антигипоксантаов // Итоги науки и техники. – М., 1991. – Т. 27. – С. 100–119.

73. Гацура В.В., Пичугин В.В. Электронакцепторные системы как противоишемические средства // Всесоюзн. симпозиум по целенаправленному изысканию новых физиологически активных соединений, 3-й. Рига, 1979. – С. 62.

74. Гацура В.В., Пичугин В.В., Сернов Л.Н., Смирнов Л.Д. Противоишемический кардиопротекторный эффект мексидола // Кардиология. – 1996. – Т. 36, № 11. – С. 59–62.

75. Гацура В.В., Пичугин В.В., Сурменков А.А. Катетеризация вен сердца и исследование ранних расстройств метаболизма ишемизированного миокарда // Кардиология. – 1974. – Т.14, № 4. – С. 72–77.

76. Гацура В.В., Сернов Л.Н. Высокоэнергетические субстраты гликолиза и макроэрги как противоишемические средства // Гериатрические средства. – Киев, 1990. – С. 44–44.

77. Гацура В.В., Сидоренко А.Ф. Коронарогенный метаболический ацидоз и проблема его фармакологической коррекции // Успехи физиол. наук. – 1986. – Т.17, № 4. – С. 38–56.

78. Гацура В.В., Смирнов Л.Д. Кардиопротекторные свойства некоторых синтетических антиоксидантов // Хим. – фарм. журн. – 1992. – Т.24, № 11-12. – С. 10–15.

79. Гацура С.В. К морфометрической оценке размера инфаркта миокарда в эксперименте // "Оценка фармакологической активности химических соединений: Принципы и подходы". Тез. докл. – М., 1989. – Часть 1. – С. 78.

80. Гацура С.В. Кислородзависимые факторы механизма противоишемического действия верапамила и амлодипина // Бюлл. exper. биол. и мед. – 2004. – Т. 137, № 1. – С. 48–50.

81. Гацура С.В., Гладких С.П., Титов М.Н. Влияние низкоэнергетического лазерного излучения на размеры экспериментального инфаркта миокарда, перекисное окисление липидов и сродство гемоглобина к кислороду // Бюлл. exper. биол. и мед. – 2004. – Т. 137, № 4. – С. 403–405

82. Гацура С.В., Гукасов В.М. Влияние антагонистов кальция на процессы деоксигенации крови // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1992. – Т. 114, № 10. – С. 1460–1462.

83. Гацура С.В., Зинчук Д.В. Влияние эналаприла и лозартана на размеры экспериментального инфаркта миокарда, сродство гемоглобина к кислороду и некоторые показатели перекисного окисления липидов // Эксп. и клин. фармакол. – 2004. – Т.67, № 1. – С. 19–21

84. Герасимов А.М., Деленян Н.В. Пространственный фактор в регуляции свободнорадикальных процессов // Мат. междунар. симп. "Кислород и свободные радикалы". – Гродно, 1996. – С. 40–41.

85. Герасимов А.М., Деленян Н.В., Шаов М.Т. Формирование системы противокислородной защиты организма. – М.:, 1998. – 187 с.

86. Герасимов А.М., Коваленко Е.А., Касаткина Н.Д. и др. Парадоксальная реакция некоторых внутриклеточных механизмов защиты от O_2 при адаптации организма к гипоксии // Докл. АН СССР. – 1979. – Т. 244, № 2. – С. 492–495.

87. Гершаник Г.М. Исследование фармакологической активности производного пиридинкарбоновой кислоты. Автореф. дис. ...канд. фарм. наук. – Купавна. – 2000. – 18 с.

88. Гиммерих Ф.И. О регулировании отдачи кислорода эритроцитами // Кислородный режим организма и его регулирование. – Киев, 1966. – С. 134–141.

89. Гладких С.П., Алексеев Ю.В., Истомин Н.П. Триггерные молекулярные механизмы формирования биологических эффектов при низкоэнергетической лазерной терапии // Лазер-информ. – М., 1996. – С. 7–11.

90. Гладких С.П., Полонский А.К., Сторожаков Г.И., Алексеев Ю.В. Методы расчета оптимальных световых доз при низкоэнергетической лазерной терапии // Лазер-информ. – М., 1998. – С. 32–33.

91. Глазер Р.Г. Очерк основ биомеханики. – М.: Мир, 1988. – 128 с.

92. Глебов А.Н., Зинчук В.В. Кислородтранспортная функция крови крыс при введении липополисахарида в условиях коррекции L-аргинин-NO системы // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2005. – Т. 91, № 9. – С. 1052–1059.

93. Глуткина Н.В. Механизмы транспорта кислорода у пациентов с перенесенным инфарктом миокарда в сочетании с метаболическим синдромом Тромбоз, гемостаз и реология. – 2013а. – Т. 4, № 56. – С. 22–29.

94. Глуткина Н.В. Эффект симвастатина на кислородтранспортную функцию и прооксидантно-антиоксидантное состояние крови // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013б. – Т. 70, № 4. – С. 22–25.

95. Глуткина Н.В., Пырочкин В.М. Дисфункция эндотелия и кислородтранспортная функция крови у пациентов с перенесенным инфарктом миокарда и сахарным диабетом 2-го типа // Здравоохранение. – 2013. – № 5. – С. 4–8.

96. Глуткина Н.В., Пырочкин В.М. Кислородтранспортная функция и прооксидантно-антиоксидантное состояние крови у пациентов с перенесенным инфарктом миокарда // Кардиология в Беларуси. – 2012. – № 4. – С. 95–106.

97. Головкин В.Д., Гукасов В.М., Гацура В.В. Влияние курантила и нитроглицерина на процесс перекисного окисления липидов в условиях ишемии миокарда // Фармация. – 1988. – № 5. – С. 54–56.

98. Гончарова Л.Л., Покровская Л.А., Ушкова И.Н., Малкова Н.И. Роль антиоксидантных механизмов в реакциях организма на действие низкоинтенсивного лазерного излучения // Радиационная биология и радиоэкология. – 1994. – Т. 34, № 3. – С. 368–374.

99. Горбатенкова Е.А., Азизова О.А., Владимиров Ю.А. Реактивация супероксиддисмутазы излучением гелий-неонового лазера // Биофизика. – 1988. – №4. – С. 717–718.

100. Горожанская Э.Г. Свободнорадикальное окисление и механизмы антиоксидантной защиты в нормальной клетке и при опухолевых заболеваниях // Клиническая диагностика. – 2010. – № 6. – С. 28–44.

101. Горохова С.Г., Атаманова М.А. Оценка характеристик эритроцитов и уровня гемоглобина у больных ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2-го типа // Терапевтический архив. – 2008. – № 10. – С. 16–21.

102. Григорьянц Р.А., Мейтина Р.А., Гасилин В.С. Кислород-транспортная функция крови у больных ишемической болезнью сердца // Кардиология. – 1980. – Т. 20, № 1. – С. 50–53.

103. Гудкин Л.Р., Кузнецова Н.П., Самсонов Г.В. и др. Влияние химической модификации гемоглобина на его биологическую активность // Вопр. мед. химии. – 1988. – Т. 34, № 4. – С. 90–93.

104. Гукасов В.М. Разработка и использование высокотехнологичных медико-биологических технологий в эндоэкологии. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 2004. – 62 с.

105. Гуткин Д.В., Петрович Ю.А. Активность антиоксидантных ферментов миокарда при его ишемии // Бюл. экспер. биол. и мед. – 1982. – Т. 93, № 1. – С. 43–46.

106. Гуцин А.Г., Муравьев А.В., Шаечкина И.К. Оценка комплекса гемореологических параметров при эритроцитозе // Физиология человека. – 2000. – Т. 26, № 2. – С. 111–114.

107. Деленян Н.В., Герасимов А.М. Антиоксидантная защита у анаэробов // Мат. междунар. симп. "Кислород и свободные радикалы". – Гродно, 1996. – С. 44–45.

108. Дембицкий В.М. Алкоксипилипиды сердца млекопитающих // Укр. биохим. журн. – 1987. – Т. 59, № 1. – С. 50–55.

109. Дементьева И.И., Демуров Е.А., Гукасов В.М. и др. Роль гипероксии в изменении перекисного окисления липидов и тка-

невого метаболизма у больных, оперированных в условиях искусственного кровообращения // Анестезиология и реаниматология. – 1990. – № 6. – С. 41–45.

110. Демуров Е.А., Игнатова В.А. Метаболические и нейрогуморальные механизмы ишемических повреждений миокарда. – М.: ВИНТИ, серия физиология человека и животных, 1985. – Т. 30. – 160 с.

111. Демуров Е.А., Мильчаков В.И., Герасимов А.М. Влияние совместного использования гипербарической оксигенации и альфа-токоферола на сократительную функцию и некоторые компоненты антиокислительных систем сердца при его адреналиновом повреждении // Кардиология. – 1984. – Т. 24, № 1. – С. 67–70.

112. Дмитриева М.Г., Карпова И.В., Пивник А.В. и др. Роль гемоглобина в адаптации к гипоксии больных железодефицитной анемией // Гематол. и трансфузиол. – 1994. – Т. 39, № 1. – С. 13–15.

113. Добродей М.А., Лис М.А., Кежун Е.Н. Особенности течения гипоксии у больных ишемической болезнью сердца // Кислород и свободные радикалы: Материалы междунар. симп. – Гродно, 1996. – С. 10–11.

114. Дониная Ж.А. Межсистемные взаимоотношения дыхания и кровообращения // Физиология человека. – 2011. – Т. 37, № 2. – С. 117–128.

115. Дорохина Л.В., Зинчук В.В. Прооксидантно-антиоксидантное равновесие у крыс при гипотермии в условиях коррекции L-аргинин-NO системы // Весці АН РБ /сер. біял. нав. – 2000. – № 4. – С. 83–86.

116. Дриницина С.В., Затейщиков Д.А. Антиоксидантные свойства статинов // Кардиология. – 2005. – № 4. – С. 65–72.

117. Дубинина Е.Е., Гавровская С.В., Кузьмич Е.В., Леонова Н.В., Морозова М.Г., Ковругина С.В., Смирнова Т.А. Окислительная модификация белков и образование битирозина в очищенных белках с использованием системы Фентона // Биохимия. – 2002. – Т. 67, № 3. – С. 413–421.

118. Дюмаев К.М., Воронина Т.А., Смирнов Л.Д. Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС. – М., 1995. – 272 с.

119. Ефуни С.Н., Кудряшов В.Э., Родионов В.В. и др. Значение пробы с изометрической нагрузкой в объективной оценке эффективности гипербарической оксигенации при ишемической болезни сердца // Кардиология. – 1984. – Т. 24, № 5. – С. 77–79.
120. Жерновой А.И., Скорик В.И., Чирухин В.А., Шаршина О.М. Экспериментальное исследование влияния постоянного магнитного поля на связывание кислорода кровью *in vivo* // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 2001. – Т. 131. – № 2. – С. 150–152.
121. Жибурт Е.Б., Серебряная Н.Б., Рождественская Е.Н. и др. Некоторые клеточные механизмы действия лазерного облучения крови // Патол. физиол. эксп. тер. – 1998. – № 3. – С. 6–7.
122. Жиронкин А.Г. Кислород. Физиологическое и токсическое действие. Обзор проблемы. – Л.: Наука, 1972. – С. 1–172.
123. Журавлев А.И. Биоантиокислители в животном организме // Биоантиокислители. – М.: Наука, 1975. – С. 15–29.
124. Зінчук В.У. Дэфармаванасць эрытрацытаў прывострай штучнай гіпертэрміі // Весці АНРБ, сер. біял. нав. – 1993. – № 2. – С. 51–55.
125. Заводник И.Б., Лапшина Е.А. Процессы окисления гемоглобина человека // Биохимия. – 1996. – Т. 61, № 1. – С. 42–48.
126. Замечник Т.В., Рогова Л.Н. Гипоксия пусковой фактор развития эндотелиальной дисфункции и воспаления сосудистой стенки // Вестник новых медицинских технологий. – 2012. – Т. 19, № 2. – С. 393–394.
127. Захаров С.Д., Еремеев Б.В., Вийгма М.В., Тээсалу Р.В. Деформируемость и сдвиговая деградация эритроцитов при остром инфаркте миокарда, определяемая лазерно-дифракционным методом // Мед. физика. – 2000. – № 8. – С. 48–53.
128. Захаров С.Д., Еремеев Б.В., Перов С.Н., Панасенко Н.А. Индуцированные лазером биоэффекты в эритроцитах, осуществляющиеся через молекулярный кислород // Действие электромагнитного излучения на биологические объекты и лазерная медицина. – Владивосток: ДВО АН СССР. – 1989. – С. 52–65.
129. Захаров Ю.М. Неэритропоэтические функции эритропоэтина // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2007. – Т. 93, № 6. – С. 592–607.

130. Захаров Ю.М. Чувствительность клеток к кислороду и продукция эритропоэтина // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2005. – Т. 91, № 9. – С. 993–1004.

131. Зверко В.Л., Ракуть В.С., Зинчук В.В. Патогенетическое значение деформируемости эритроцитов в механизмах развития гестоза // Медицинские новости. – 1999. – № 7. – С.51–52.

132. Зинчук В.В., Борисюк М.В. Роль кислородсвязывающих свойств крови в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма // Усп. физиол. наук. – 1999а. – Т. 30, № 3. – С. 38–48.

133. Зинчук В.В. Деформируемость эритроцитов. Физиологические аспекты // Усп. физиол. наук. – 2001. – Т. 32, № 3. – С.66–78.

134. Зинчук В.В. Дисфункция эндотелия и кислородсвязывающие свойства гемоглобина // Кардиология. – 2009. – Т. 49, № 7–8. – С. 81–89.

135. Зинчук В.В. Зинчук Н.В. Влияние небиволола на кислородтранспортную функцию крови // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2007. – Т. 70, № 1. – С. 44–47.

136. Зинчук В.В. Прооксидантно-антиоксидантное состояние организма при введении липополисахарида в условиях коррекции сродства гемоглобина к кислороду и L-аргинин-NO-системы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2001. – Т. 131, № 1. – С. 39–42.

137. Зинчук В.В. Роль кислородсвязывающих свойств крови в формировании прооксидантно-антиоксидантного состояния организма при гипертермических состояниях различного генеза // Гродно, ГрГМУ. – 2005. – 168 с.

138. Зинчук В.В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина // Усп. физиол. наук. – 2003. – Т. 34, № 2. – С. 33–45.

139. Зинчук В.В. Факторный анализ параметров кислородтранспортной функции крови и перекисного окисления липидов в условиях ингибирования NO-синтазы при лихорадке у кроликов // Весці АН РБ, сер. біял. нав. – 1997. – № 2. – С. 89–93.

140. Зинчук В.В., Борисюк М.В. Эффект ингибирования NO-синтазы на кислородтранспортную функцию крови при лихо-

радке у кроликов // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 1997. – Т. 83, № 4. – С. 111–116.

141. Зинчук В.В., Борисюк М.В. Изменение сродства гемоглобина к кислороду и параметров прооксидантно–антиоксидантного равновесия при введении ЛПС в условиях коррекции L–аргинин–NO–пути // Бюл. exper. биол. и мед. – 1999б. – Т.127, № 6. – С. 616–619.

142. Зинчук В.В., Борисюк М.В., Корнейчук В.Н., Бушма Т.В. Анализ изменений основных параметров перекисного окисления липидов и кислородтранспортной функции крови при пирогеновой лихорадке // Физиологический журнал. – 1995. – Т. 41, № 3-4. – С. 103–108.

143. Зинчук В.В., Галушко И.Н. Сродство гемоглобина к кислороду как фактор индукции перекисного окисления липидов при гипертермиях различного генеза // Материалы междунар. научн. конф. – Гродно, 1993. – Ч. 1. – С. 23–24.

144. Зинчук В.В., Глуткин С.В. Влияние мелатонина на прооксидантно-антиоксидантное равновесие в условиях холодового воздействия с последующим отогреванием крыс // Рос. физиол. журнал им. И.М. Сеченова – 2008. – Т. 94, № 12. – С. 1435–1442.

145. Зинчук В.В., Зинчук Н.В. Влияние небиволола на кислородтранспортную функцию крови // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2007. – Т. 70, № 1. – С. 44–47.

146. Зинчук В.В., Максимович Н.А., Козловский В.И., Балбатун О.А., Пронько Т.П. Дисфункция эндотелия: фундаментальные и клинические аспекты. – Гродно, 2006. – 183 с.

147. Зинчук В.В., Степура Т.Л. Эффект пероксинитрита на сродство гемоглобина к кислороду *invitro* // Биофизика. – 2006. – Т. 131, № 1. – С. 32–38.

148. Зинчук В.В., Степура Т.Л. Внутриэритроцитарная система регуляции сродства гемоглобина к кислороду // Новости медико-биологических наук. – 2013. – Т. 7, № 1. – С. 45–56.

149. Зинчук В.В., Ходосовский М.Н. Участие кислородзависимых процессов в патогенезе реперфузионных повреждений печени // Успехи физиологических наук. – 2006. – Т. 34, № 4. – С. 45–56.

150. Зинчук В.В., Шульга Е.В. Эффект мелатонина на кислородсвязывающие свойства крови и прооксидантно-антиоксидантное

состояние после введения липополисахарида // Экспер. и клинич. фармакология. – 2010. – Т. 73, № 4. – С. 18–22.

151. Зинчук В.В., Шульга Е.В., Гуляй И.Э. Влияние эритропоэтина на кислородтранспортную функцию крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние у кроликов при введении липополисахарида // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2010. – Т. 96, № 1. – С. 43–49.

152. Задионченко В.С. и др. Влияние ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента на оксидативный стресс, функцию эндотелия у больных инфарктом миокарда // Кардиология. – 2009. – Т. 49, № 7–8. – С. 32–37.

153. Зотова И. В., Затейщиков Д.А., Сидоренко Б.А. Синтез оксида азота и развитие атеросклероза // Кардиология. – 2002. – Т. 4. – С. 58–67.

154. Зубкова С.М., Сорокина Е.И., Кеневич Н.А. и др. Антиоксидантные системы крови у больных ИБС при лазерной терапии // Вопр. курортолог. физиотер. леч. физкульт. – 1993. – № 6. – С. 4–7.

155. Зырянова Т.Н., Лаврова В.М., Канапатская И.А., Пикулев А.Т. Влияние низкоэнергетического лазерного излучения на интенсивность перекисидации липидов // Вопр. мед. хим. – 1994. – Т. 40, № 2. – С. 31–33.

156. Иванов К.П. Биологическое окисление и его обеспечение кислородом. – СПб: Наука, 1993. – 272 с.

157. Иванов К.П., Чуйкин А.Е., Самсонов Г.В., Кузнецов Н.П. Роль сродства гемоглобина к кислороду в эффективности дыхательной функции крови // Косм. биол. авиакосм. мед. – 1987. – Т. 21, № 3. – С. 77–80.

158. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М. Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока. 2-е изд. Гэотар-Медиа. – 2013. – 376 с.

159. Ивенс И., Скейлак Р. Механика и термодинамика биологических мембран. – М.: Мир, 1982. – 257 с.

160. Ильина С.Н., Ильина И.И. Влияние кавинтона на кислородтранспортную функцию крови при дистрофии сетчатки // Материалы междунар.научн. конф. – Гродно, 1993. – Ч. 1. – С. 26–27.

161. Иржак Л.И. Гемоглобины и их свойства. – М.: Наука, 1975. – 240 с.
162. Иржак Л.И. Сродство гемоглобина к кислороду при оксигенации и дезоксигенации // Докл. РАН. – 1992. – Т. 326, № 4. – С. 746–748.
163. Иржак Л.И., Гладилов В.В., Мойсеенко Н.А. Дыхательная функция крови в условиях гипероксии. – М.: Медицина. – 1985. – 176 с.
164. Иржак Л.И., Лощинский Ю.В. Действие плазмы крови и спинномозгового ликвора на функциональные свойства гемоглобина человека // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1993. – Т. 90, № 6. – С. 565–566.
165. Каган В.Е., Орлов О.Н., Прилипко Л.Л. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов // Биофизика: Итоги науки и техники. – М.: ВИНТИ, АН СССР, 1986. – 197 с.
166. Казаченко Т.М. Антигипоксическое и кардиопротекторное действие персульфата натрия. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Купавна, 1996. – 20 с.
167. Казаченко Т.М., Пичугин В.В., Гацура В.В. Кардиопротективное действие персульфата при аконитиновой активации перекисного окисления липидов // 1-й съезд Российского научного общества фармакологов. Тез. докл. – М., 1995. – С. 181.
168. Калмыкова В.И. Перекиси липидов и антиоксиданты в патогенезе и терапии атеросклероза. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. – М., 1978.
169. Калугин А.В. К проблеме окислительных процессов в ишемическом мозге // Биохимия. – 1996. – Т. 61, № 5. – С. 939–941.
170. Каменская О.В. и др. Функциональное состояние микроциркуляторного кровотока периферических тканей у пациентов с системным атеросклерозом в сочетании с сахарным диабетом 2 типа // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2012. – Т. 42, № 2. – С. 16–21.
171. Канделаки И.Н., Гацура С.В., Вититнова М.Б. и др. Острая ишемия и микроэлементы крови // III симпозиум Советской секции Международного общества по изучению сердца. – Баку, 1986. – С. 196.

172. Канделаки И.Н., Гацура С.В., Крыжановский С.А. и др. Микроэлементы миокарда при острой коронарной недостаточности // III симпозиум Советской секции Международного общества по изучению сердца. – Баку, 1986. – С. 197.

173. Каро К., Педли Т., Шротер Р. и др. Механика кровообращения – М.: Мир., 1981. – 624 с.

174. Карпун Н.А. Изменения и коррекция реологических свойств крови у больных ишемической болезнью сердца при хирургической реваскуляризации миокарда. Автореф. дис.... канд. мед. наук. – М., 1995. – 16 с.

175. Кару Т.И. О молекулярном механизме терапевтического действия излучения низкоинтенсивного лазерного света // ДАН СССР. Серия “Биофизика”. – 1986. – Т. 291, № 5. – С. 1245–1249.

176. Кару Т.И. Регуляция клеточного метаболизма низкоинтенсивным лазерным светом // Методы лазерной биофизики и их применение в медицине. – Тарту, 1989. – С. 15–22.

177. Катюхин Л.Н. Реологические свойства эритроцитов. Современные методы исследования // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 1995. – Т. 81, № 6. – С. 122–129.

178. Кипшидзе Н.Н., Хомерики С.Г., Кубатиев А.А. и др. Лектининдуцированная хемилюминесценция нейтрофильных гранулоцитов периферической крови больных ишемической болезнью сердца до и после облучения крови гелий-неоновым лазером // Кардиология. – 1992. – Т. 32, № 1. – С. 53–56.

179. Кипшидзе Н.Н., Чапидзе Г.Э., Марсагишвили Л.А., Бохуа М.Р., Салуквадзе Н.С., Долидзе Н.К. Влияние внутрисосудистого облучения крови гелий-неоновым лазером на маркеры зоны ишемического повреждения сердечной мышцы у больных острым инфарктом миокарда // Кардиология. – 1990. – Т. 30, № 4. – С. 44–47.

180. Коваленко Е.А., Черняков И.Н. Кислород тканей при экстремальных факторах полета // Проблемы космической биологии. – М., 1972. – Т. 21. – 264 с.

181. Ковеленов А.Ю., Лобзин Ю.В., Плужников Н.Н., Дьячков Д.В. Влияние перфторана на течение экспериментального гепатита // Эксп. и клин. фармакол. – 2001. – Т. 64, № 1. – С. 41–44.

182. Коган А.Х., Грачев С.В., Елисеева С.В., Болевич С. Способность углекислого газа подавлять продукцию супероксидного

аниона в клетках и его биомедицинское значение // Вопр. мед. химии. – 1996. – Т. 42, № 3. – С. 193–202.

183. Кожекин В.В., Решелько А.А., Ткачев А.М., Жук С.А. Внутривенное лазерное облучение крови и кислородтранспортная функция // Анестезиол. и реаниматол. – 1999. – Т.42. – № 1. – С.42–43.

184. Кожемякин Л.А., Коростовцев Д.С., Королева Т.Р. Циклические нуклеозиды в клинической и экспериментальной медицине // Циклические нуклеотиды. – М.: Наука. – 1979. – С. 92–135.

185. Козлов А.В., Шинкаренко Л.И., Владимиров Ю.А., Азизова О.А. Роль эндогенного свободного железа в активации перекисного окисления липидов при ишемии // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1985. – Т. 99, № 1. – С. 38–40.

186. Козлов В.И., Буйлин В.А., Самойлов Н.Г., Марков И.И. Основы лазерной физио- и рефлексотерапии. – Самара. – Киев, 1993. – 216 с.

187. Козлов М.М., Маркин В.С. Мембранный скелет эритроцита. Теоретическая модель // Биологические мембраны. – 1986. – Т. 3, № 4. – С. 404–422.

188. Козлов Ю.П., Каган В.Е., Архипенко Ю.В. Молекулярные механизмы повреждения кислородом системы транспорта кальция в саркоплазматическом ретикулуме мышц. – Иркутск.: Изд-во Иркутск. Гос. Ун-та. – 1983. – 134 с.

189. Колешко С.В. Динамика показателей кислородтранспортной функции крови и нитрат/нитритов при остром экспериментальном панкреатите у крыс // Журн. Гродненского гос. мед. ун-та. – 2009. – № 2. – С. 203–205.

190. Конев С.В. Структурная лабильность биологических систем и регуляторные процессы. – Минск.: Наука и техника. – 1987. – 240 с.

191. Конколь К.Ю., Коваленко В.Н. Влияние адреналина и допегита на кислородтранспортную функцию крови, липидный обмен у больных гипертонической болезнью // Материалы междунаро. научной конф. – Гродно, 1993. – Ч. 1. – С. 30–31.

192. Конорова И.Л., Новиков В.Э., Ганнушкина И.В. Влияние эмационального стресса на сродство гемоглобина к кислороду у низкорезистентных к нему животных в норме и при ишемии го-

ловного мозга // Бюллетень эксперим. биол. и медицины. – 2007. – Т. 144, № 10. – С. 376–379.

193. Конради Г.П. Регуляция сосудистого тонуса. – Ленинград. – 1973. – 328 с.

194. Коржуев П.А. Проблема оксигенации гемоглобина // Успехи физиол. наук. – 1973. – Т. 4, № 3. – С. 69–112.

195. Коржуев П.А. Гемоглобины и их свойства. – М., Наука, 1964. – 287 с.

196. Корик В.Е. Применение кровезаменителя – переносчика кислорода на основе модифицированного гемоглобина. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб, 2000. – 17 с.

197. Коркушко О.В., Писарчук А.В. Возрастные особенности компенсации гипоксии путем усиления диссоциации оксигемоглобина // Физиол. человека. – 1993. – Т. 19, № 5. – С. 171–175.

198. Коркушко О.В. и др. Устойчивость к гипоксии в пожилом возрасте и факторы, ее определяющие // Буковинський медичний вісник. – 2011. – Т. 15, № 3. – С. 185–192.

199. Корочкин И.М., Картелишев А.В., Бабушкина Г.В., Капустина Г.М. Комбинированная гелий-неон-лазерная терапия у больных ишемической болезнью сердца // Кардиология. – 1990. – Т. 30, № 3. – С. 24–28.

200. Костенко Л.Х., Карпова И.В. О возможности использования бензоата натрия для фармакологической стимуляции кислородтранспортной функции гемоглобина // Тез. докл. Всесоюзного симпозиума "Фармакологическая коррекция кислородзависимых патологических состояний". М., 1984. – С. 62–63.

201. Кошелев В.Н. Лазеры в лечении ран. Саратов: Изд-во СГУ. – 1980.

202. Кравченко Н.А., Ярмыш Н.В. Регуляция экспрессии эндотелиальной NO-синтазы и дисфункция сосудистого эндотелия при сердечно-сосудистой патологии // Цитология и генетика. – 2008. – Т. 42, № 4. – С. 69–80.

203. Кремнева Л.В., Шалаев С.В. Острый коронарный синдром у больных с нарушениями углеводного обмена // Терапевтический архив. – 2009. – Т. 81, № 10. – С. 27–34.

204. Кривошеков С.Г. Стресс, функциональные резервы и здоровье // Сибирский педагогический журнал. – 2012. – № 9. – С. 104–109.

205. Кудрин А.Н. Ингибиторы перекисного свободнорадикального окисления липидов как противоишемические средства // Фармакологическая коррекция кислородзависимых патологических состояний. – М., 1984. – С. 120–121.

206. Кудрин А.Н., Коган А.Х., Королев В.В. и др. Свободно-радикальное окисление липидов в патогенезе инфаркта миокарда и лечебно-профилактическая роль антиоксидантов селенита натрия и его комбинации с витамином Е // Кардиология. – 1978. – Т. 18, № 2. – С. 115–117.

207. Кудрин А.Н., Смоленский В.С., Коган А.Х. и др. Антиоксиданты в терапии экспериментальной ишемии миокарда и ишемической болезни сердца // Кардиология. – 1988. – Т. 28, № 7. – С. 115–121.

208. Кузнецова Н.П., Гудкин Л.Р., Мишаева Р.Н. Повышение кислородтранспортной эффективности гемоглобина при его химической модификации // Биохимия. – 1996. – Т. 61, № 4. – С. 680–689.

209. Кузьминов О.М., Прибылова Н.Н., Прибылов С.А. и др. Клиническая эффективность лечения ИБС различными способами низкоэнергетического лазерного излучения // В кн: Актуальные вопросы научно-практической медицины. – Орел, 1997. – С. 430–434.

210. Кукес В.Г., Грязнов В.В., Блистанова Л.С. Сродство гемоглобина к кислороду и его коррекция каптоприлом при хронической сердечной недостаточности // Кардиология. – 1989. – Т. 29, № 4. – С. 34–36.

211. Ладиллов Ю.В., Исламов Б.И., Воробьев С.И. Влияние поверхностно-активного вещества проксанола на ишемизированный миокард // Экспер. и клин. фармакол. – 1992. – Т. 55, № 2. – С. 23–25.

212. Ладиллов Ю.В., Исламов Б.И., Воробьев С.И., Иваницкий Г.Р. Противоишемическое действие перфторуглеродной эмульсии (ПФУЭ) на миокард собак // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1991. – Т. 111, № 2. – С. 139–142.

213. Лазарев Н.В. Вредные вещества в промышленности. – Л., 1977. – Т. 3. – С. 71.

214. Лакин К.М., Балуда В.П., Макаров В.А. Фармакология простаглицлина и простаглицлинподобных соединений // Вестн. АМН СССР. – 1982. – № 5. – С. 81–91.

215. Ландарь В.А., Гудим Т.В., Шеметов В.Д., Гозинец Г.И. Устройство для определения деформабельности эритроцитов // Лаб. дело. – 1989. – № 18. – С. 65–66.

216. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях (Пособие для врачей). – Москва. РКНПК МЗ РФ. – 2001. – 78 с.

217. Ланьшина О.Е., Логинов В.А., Коваленко Е.А. Напряжение кислорода и водорастворимые продукты перекисного окисления липидов в крови испытуемых при гипобарической гипероксии // Бюл. exper. биол. и мед. – 1992. – Т. 116, № 9. – С. 254 – 255.

218. Лашина В.М. Кислородсвязывающие свойства гемоглобина в условиях воздействия на организм природных зоотоксинов // В кн. “Механизмы действия зоотоксинов”. – Горький, 1985. – С. 100–104.

219. Лебедева Н.Б., Зубрихина Г.Н., Соловьева Е.А., Никитина Т.А. Автоматический анализатор крови “Техникон Н-1” в гематологической клинике // Клин. лаб. диагн. – 1995. – № 6. – С. 72–73.

220. Лебкова Н.П., Чижов А.Я., Бобков Ю.Г. Субклеточные механизмы адаптации к прерывистой нормобарической гипоксии // Прерывистая нормобарическая гипоксия (Агаджанян Н.А. и др. ред.). – М., 1997. – С. 179–186.

221. Левандовский И.В., Епишин Ю.Н. Лечение ранних нарушений гомеостаза с помощью цитохрома С, препарата ПСН (персульфата натрия) и контрикала при турникетном шоке // Анест. и реаниматол. – 1981. – № 3. – С. 60–63.

222. Левина Д.И., Кароза А.Е., Чещевик А.Б., Манак Н.А. Фильтруемость эритроцитов у больных со стабильной стенокардией в зависимости от метеочувствительности // Кардиология. – 1991. – Т. 31, № 4. – С. 47–48.

223. Левтов В.А., Регирер С.А., Шадрина Н.Х. Реология крови. – М.: Медицина, 1982. – 272 с.

224. Леонтьева Н.В. Механизмы влияния низкоинтенсивного лазерного излучения на систему гемостаза и микроциркуляции. Дис. докт. мед. наук. – СПб. – 2000. – 328 с.

225. Лис М.А., Добродей М.А., Солоненко Ю.Т., Скренда А.С. Кислородтранспортная функция крови у больных с обострением ишемической болезни сердца // Материалы междунар. научной конф. – Гродно, 1993. – Ч. 1. – С. 40–41.

226. Лисовская И.Л. Популяционные характеристики эритроцитов в норме и патологии; фильтрационно-осмотические методы исследования деформируемости. Дис...докт. биол. наук. М. – 2004. – 198 с.

227. Лисовская И.Л., Шурхина Е.С., Атауллаханов Ф.И. и др. Фильтрационно–осмотический метод оценки распределения эритроцитов по реологическим параметрам. Обоснование и практические приложения // 1999. – № 3. – С. 20–24.

228. Литвицкий П.Ф., Грачев С.В. Повреждение клетки. – М, 1997. – 52 с.

229. Лощинский Ю.В. Использование комплекса из четырех десатураторов для получения кривых диссоциации оксигемоглобина // Физиол. журн. – 1993. – Т. 79, № 12. – С. 89–91.

230. Лукьянова Л.Д., Кирова Ю.И., Сукоян Г.В. Новое о сигнальных механизмах адаптации к гипоксии и их роли в системной регуляции // Патогенез. – 2011. – Т. 9, № 3. – С. 4–14.

231. Лю Б.Н., Ефимов М.Л. Антиоксидантная система клетки и канцерогенез // Усп. совр. биол. – 1976. – Т. 82, № 2. – С. 236 – 251.

232. Люсов В.А., Каплан М.А., Манаев И.В. и др. Эффективность лазерной терапии у больных со стенокардией напряжения II-IV функционального класса (с использованием инструментальных методов исследования) // Кардиология. – 1992. – Т. 32, № 6. – С. 23–25.

233. Люсов В.А., Метельская В.А., Оганов Р.Г., Евсиков Е.М., Теплова Н.В. Уровень оксида азота в сыворотке периферической крови больных с различной тяжестью артериальной гипертензии // Кардиология. – 2011. – Т. 51, № 12. – С. 23–38.

234. Максимов Г.В., Родненков О.В., Лунева О.Г., Браже Н.А., Паршина Е.Ю., Рубин А.Б., Чазов Е.И. Изучение роли плазматической мембраны эритроцитов в формировании гипоксии у боль-

ных с хронической сердечной недостаточностью // Терапевтический архив. – 2005. – № 9. – С. 70–73.

235. Манухина Е.Б. Защита и повреждение сердечно-сосудистой системы при периодической гипоксии: роль оксида азота // IV Всероссийская с международным участием школа-конференция по физиологии кровообращения: Тезисы докладов. – Москва, 2008. – С. 58–59.

236. Мареев В.Ю. Лечение сердечной недостаточности на рубеже веков. Становятся ли положения доказательной медицины доказательствами для практикующих врачей // кардиология. – 2000. – Т. 40, № 12. – С. 4–12.

237. Марков Х.М. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия // Кардиология. – 2005. – Т. 45, № 12. – С. 62–72.

238. Мартынов А.И. и др. Дисфункция эндотелия у больных гипертонической болезнью // Кардиология. – 2005. – Т. 45, № 10. – С. 101–104.

239. Матвеев С.Б., Голиков П.П., Марченко В.В. и др. Газовый состав крови и сродство гемоглобина к кислороду в остром периоде инфаркта миокарда // Кардиология. – 1983. – Т. 23, № 7. – С. 39–43.

240. Матеша А.М., Янкелевич Ю.Д. О возможной роли кислородтранспортной функции крови в патогенезе ишемического инсульта // Материалы международн. научн. конф. – Гродно, 1993. – Ч. 1. – С. 42–43.

241. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. – Новосибирск: Наука, 1983. – 256 с.

242. Мезенцева В.С. Влияние некоторых метаболитов энергетического обмена на процесс деоксигенации крови. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Купавна, 1991. – 28 с.

243. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Усп. совр. биол. – 1993. – Т. 113, № 4. – С. 442 – 453.

244. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Реутов В.П. Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающих при различных функциональных состояниях // Биохимия. – 2000. – Т. 65, № 4. – С. 485–503.

245. Метелица В.И. Справочник по клинической фармакологии сердечно-сосудистых лекарственных средств. М.: Медпрактика, 1996. – 784 с.

246. Мещеряков А.В., Рузайкина Т.И., Пиляева И.Е. и др. Перекисное окисление липидов при операциях на открытом сердце // Анестезиология и реаниматология. – 1990. – № 1. – С. 19–22.

247. Митьковская Н.П., Григоренко Е.А., Данилова Л.И. Сердце и метаболический риск. – Минск: Беларус. наука, 2008. – 277 с.

248. Митянина В.А. и др. Исследование кислородсвязывающих свойств эритроцитов у детей с разными сроками заболевания сахарным диабетом 1-го типа // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2012. – Т. 153, № 4. – С. 499–503.

249. Мchedlishvili Г.И. Микроциркуляция крови. Л., Наука, 1989. – 295 с.

250. Некипелова А.А. Исследование противоишемической активности некоторых производных пиридинкарбоновых кислот. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Купавна, 1996. – 17 с.

251. Нижарадзе И.Ш. Морфофункциональная характеристика эритроцитов и реологические свойства крови у больных хронической ишемической болезнью сердца с застойной недостаточностью кровообращения. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Тбилиси, 1984. – 26 с.

252. Новицкий В.В., Степанова Е.А., Гольдберг В.Е. и др. Эритроциты и злокачественные образования. Томск, 2000. – 287 с.

253. Новожилов А.В., Тавровская Т.В., Иванов В.А., Морозов В.И. Гематологические показатели и окислительно-восстановительный баланс крови крыс в динамике иммобилизации // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155, № 4. – С. 439–442.

254. Оковитый С.В. и др. Антигипоксанты в современной клинической практике // Клиническая медицина. – 2012. – Т. 90, № 9. – С. 63–68.

255. Олесова В.М. и др. Метаболизм миокарда и препараты метаболического действия // Кардиология. – 2013. – Т. 53, № 1. – С. 66–71.

256. Осадчий П.В., Сигал В.Л. Изменение деформируемости эритроцитов в процессе хранения донорской крови // Гематол. трансфузиол. – 1987. – № 3. – С. 31–33.

257. Павлюк И.В., Дудок Е.П., Климишин Н.И. Кислородсвязывающие свойства гемоглобина, ПОЛ и ферменты антиоксидантной системы при адаптации животных к гипоксии // Материалы междунар. научной конф. – Гродно, 1993. – Ч. 1. – С. 43–44.

258. Переносчики кислорода (ред. Г.Я. Розенберг) // Сборник научн. тр. ЦНИИ гематологии и переливания крови. М., 1979. – 127 с.

259. Пескин А.В. Взаимодействие активного кислорода с ДНК // Биохимия. – 1997. – Т. 62, № 12. – С. 1571–1578.

260. Платэ Н.А., Васильев А.Е. Физиологически активные полимеры. М. Химия. 1986. – 296 с.

261. Плотников М.Б., Алиев О.И., Васильев А.С., Маслов М.Ю., Зибарева Л.Н., Дмитрук С.Е., Калинкина Г.И. Гемореологические эффекты экстрактов *Lychnis chalcedonica*. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2000. – Т. 63, № 2. – С. 54–56.

262. Плотников М.Б., Лаптев Б.И., Плотникова Т.М. Метод отбора препаратов, меняющих связывание гемоглобина с кислородом // Фармакол. и токсикол. – 1989. – Т. 52, № 6. – С. 83–85.

263. Плотникова Т.М., Фирсов Н.Н., Саратиков А.С. Влияние цереброкраста на функциональное состояние эритроцитов // Экспер. и клин. фармакол. – 1993. – Т. 56, № 3. – С. 35–37.

264. Полушина Т.В., Хохлова М.П., Пушкарь Л.Н. и др. Методические указания по экспериментальному изучению противошоковых кровезаменителей направленного и полифункционального действия // Руководящие методические материалы по экспериментальному и клиническому изучению новых лекарственных средств. – М., 1986. – Ч. 6. – С. 109–126.

265. Полуянова В.М., Вавилов П.М. Опыт применения прерывистой нормобарической гипоксической стимуляции у больных ишемической болезнью сердца // Прерывистая нормобарическая гипокситерапия. – М., 1997. – С. 232–238.

266. Пристром А.М., Бенхамед М. Оксидативный стресс и сердечно-сосудистые заболевания // Лечебное дело. – 2012. –

№ 2. – С.19–24.

267. Пырочкин В.М., Глуткина Н.В. Механизмы транспорта кислорода и свободнорадикального окисления липидов при инфаркте миокарда в сочетании с метаболическим синдромом, сахарным диабетом 2-го типа. – М.: Новое знание, 2014. – 136 с.

268. Пятницкий А.М., Соколинский Б.З., Бетрова М.В. и др. Анализ эритроцитов в системе "Мекос-Ц" // Клин. лаб. диагн. – 1997. – № 10. – С. 8–9.

269. Рапопорт С.И., Шаталова А.М. Мелатонин и регуляция деятельности сердечно-сосудистой системы // Клиническая медицина. – 2001. – № 6. – С. 4–7.

270. Рахимова О.Ю. Мелатонин и его место в развитии заболеваний желудочно-кишечного тракта // Клиническая медицина. – 2009. – № 3. – С. 11–18.

271. Ревенко С.В., Резников К.М. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на эффекты кардиотропных препаратов // Сборник тезисов 2-го съезда Российского научного общества фармакологов. – М. – 2003. – Ч. II. – С. 114.

272. Резников К.М. Влияние строфантина, гипербарической оксигенации и их комбинации на энергетическое обеспечение сердца при экспериментальных некрозах миокарда. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Воронеж, 1971.

273. Рифкинд Дж. Гемоглобин и миоглобин // Неорганическая химия (пер. с англ.). – М., "Мир", 1978. – Ч. 2. – С. 256–338.

274. Ройтберг Г.Е., Гацура С.В., Лямин П.А. Влияние амлодипина, верапамила, эналаприла и лозартана на деформируемость эритроцитов и сродство гемоглобина к кислороду // Вестник РГМУ. – 2004. – Т. 1, № 32. – С. 11–18

275. Ройтман Е.В., Дементьева И.И., Азизова О.А. и др. Изменение реологических свойств крови и осмотической резистентности эритроцитов при активации свободнорадикальных процессов // Клин. лаб. диагн. – 2001. – № 3. – С. 42–43.

276. Рубан М.К., Вашанов Г.А., Лавриненко И.А. Структурно-функциональные модификации нитрозилированного гемоглобина, индуцированные оксигенацией // 2010. – № 1. – С. 56–61.

277. Русяев В.Ф., Чернов А.А. Кондуктометрический способ исследования деформации эритроцитов // Лаб. дело. – 1988. – № 12. – С.24–27.

278. Рябов Г.А. Гипоксия критических состояний. – М.: Медицина, 1988. – 288 с.

279. Рядовой Г.В., Тутубалин В.Н. Современные достижения в исследовании кислородтранспортной функции гемоглобина и применение их в клинике // Анестезиол. и реаниматол. – 1994. – № 2. – С. 3–10.

280. Сагач Ф.В., Буряков И.Е. О роли эйкозаноидов в нарушении деятельности сердца и коронарного кровообращения иммунного генеза // Междунар. об-во по изучению сердца. – Советская секция. Симпозиум, 3-й. – Баку, 1986. – С. 120.

281. Сапегин Д.И. Изменение содержания оксигемоглобина в артериальной и венозной крови под влиянием различных доз сердечных гликозидов // Фармакол. токсикол. – 1965. – Т. 28, № 5. – С. 555–558.

282. Сапегин Д.И. Экспресс-метод определения скорости диссоциации гемоглобина в гигиенических условиях // Гигиена и санитария. – 1978. – № 9. – С. 77–79.

283. Сахаров И.Ю., Духанина Е.А., Пучнина Е.А. и др. Оксидативная инактивация ангиотензинпревращающего фермента // Биохимия. – 1991. – Т. 56, № 1. – С. 55–62.

284. Селезнев С.А., Назаренко Г.И., Зайцев В.С. Клинические аспекты микрогемоциркуляции. – Л.: Медицина, 1985. – 208 с.

285. Сергеев П.В., Снегирева Г.В., Гукасов В.М., Гацура В.В. Соотношение антиоксидантного и противоишемического эффектов некоторых энергообеспечивающих средств // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1991. – Т. 112, № 10. – С. 381–382.

286. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Дифференциальный индикаторный метод определения размеров зоны некроза и ишемии при экспериментальном инфаркте миокарда у крыс // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1989. – Т. 108, № 5. – С. 534–535.

287. Сигал В.Л. Фильтрационные методы определения деформационных (вязкоупругих) свойств мембраны биологических клеток // Лаб. дело. – 1989. – № 5. – С. 4–9.

288. Скулачев В.П. Нефосфорилирующее дыхание как механизм, предотвращающий образование активных форм кислорода // Молекулярная биол. – 1995. – Т. 29, № 6. – С. 1199–1209.

289. Смирнова Л.Г., Кост Е.А. Руководство по клиническим лабораторным исследованиям. М. – 1960. – 964 с.

290. Сороковой В.И., Никитина Г.М., Моченова Н.Н. Роль плазмолеммы в процессах старения, элиминации и воспроизводства эритроцитов: микровезикулы плазмалеммы как стимуляторы эритропоэза // Вестн. РАМН. – 1996. – № 9. – С. 35–40.

291. Спасов А.А., Недогода В.В., Куаме Конан, Кучерявенко А.Ф. Влияние внутривенного лазерного облучения крови на действие лекарственных препаратов // Эксп. и клин.фармакол. – 2000. – Т. 63, № 5. – С. 65–67.

292. Стародуб Н.Ф., Назаренко В.И. Гетерогенная система гемоглобина: структура, свойства, синтез, биологическая роль. – Киев, 1982. – 200 с.

293. Стародубцева М.Н., Кузнецова Т.Г., Кузнецова Т.А. Пероксинитрит-индуцированные структурные перестройки в эритроцитарных мембранах // Вести НАН Беларуси. Сер. биол. наук. – 2006. – № 3. – С. 90–93.

294. Стародубцева М.Н., Черенкевич С.Н. Механизмы реакций гемоглобина с пероксинитритом в водно-солевом растворе // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. – біял. навук. – 2003. – № 2. – С. 86–90.

295. Степура И.И., Митянок Н.В., Наумов А.В. и др. Понижение сродства гемоглобина к кислороду – один из путей фармакологической коррекции гипоксического состояния // Докл. 1-го Всесоюзн. симп. " Фармакологическая коррекция кислородзависимых патологических состояний". М. – 1984. – С. 35.

296. Сторожаков Г.И., Михайлова С.Д., Гукова С.Ю. и др. Влияние лазерного облучения на течение ишемических аритмий сердца // Вестник аритмологии. – 2000. – № 17. – С. 65.

297. Сторожок С.А., Белкин А.В. Эктацитометрическая характеристика деформабильности эритроцитов молодой и старой популяций в условиях нормального и напряженного эритропоэза // Научн. вестник ТГУ, серия "Биология". Тюмень. – 1996. – С. 25–33.

298. Сторожук П.Г. Ферменты прямой и косвенной антирадикальной защиты эритроцитов и их роль в инициации процессов оксигенации гемоглобина, антибактериальной защите и делении клеток // Вестн. интенсивной терапии. – 2000. – № 4. – С. 39–43.

299. Стрелков Р.Б., Караш Ю.М., Чижов А.Я. и др. Метод повышения неспецифической резистентности организма с помощью нормобари-ческой гипоксической стимуляции // М., МЗ СССР, 1985. – 11 с.

300. Стрельцова Н.Н., Васильев А.П., Сенаторов Ю.П. и др. Гиполипидемический эффект лазерного излучения у больных ишемической болезнью сердца. В кн.: Актуальные вопросы курортологии и физиотерапии. – Томск., 1997. – С. 146–147.

301. Сусеков А.В., Горнякова Н.Б., Зубарева М.Ю. Доказательная база эффективности симвастатина (зокора): 15 лет спустя // Терапевтический архив. – 2010. – Т. 82, № 2. – С. 68–72.

302. Сухомлинов Б.Ф., Столяр О.Б. Исследование механизмов регуляции кислородтранспортной функции гемоглобина у облученных животных // Укр. биохим. журн. – 1982. – Т. 54, № 2. – С. 129–133.

303. Тепляков А.Т. и др. Влияние амлодипина на транскапиллярный обмен кислорода при ишемической болезни сердца с инсулинорезистентностью // Клиническая медицина. – 2013. – Т. 91, № 4. – С. 16–18.

304. Тимочко М.Ф., Алексевич Я.И., Бобков Ю.Г. и др. Особенности кислородного баланса в экстремальных условиях // NeuroxiaMedicalJ. – 1996. – № 3. – С. 8–12.

305. Тишковский С.В., Терещенко С.В. Зависимость кислородтранспортной функции крови у больных СД 1 типа от длительности заболевания и выраженности диабетической ангиопатии // Здравоохранение. – 2002. – № 1. – С. 52–56.

306. Томашевская М.Ф., Дацкив М.З., Климишин Н.И. и др. Кислородсвязывающие свойства гемоглобина и уровень малонового диальдегида в крови устойчивых к гипоксии животных // Материалы междунар. научной конф. – Гродно, 1993. – Ч. 1. – С. 55–56.

307. Трегубова И.А., Косолапов В.А., Спасов А.А. Антиоксиданты: современное состояние и перспективы // Успехи физиол. наук. – 2012. – Т. 43, № 1. – С. 75–94.

308. Троицкая О.В., Кузнецов В.И., Юшкова В.М. Гемоглобинопатии у студентов Российского университета Дружбы Народов // Клин. лаб. диагн. – 1999. – № 5. – С. 41–46.

309. Троицкая О.В., Юшков Н.М., Волков Н.В. Гемоглобинопатии: Учебн. пособие. – М., Изд-во РУДН, 1996. – 145 с.

310. Тужилова Е.Г. Геометрические параметры и механические свойства эритроцитов как факторы, определяющие их деформируемость в норме, при консервировании крови и у больных с нарушениями мозгового кровообращения. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М. – 1994. – 16 с.

311. Урюпов О.Ю., Сумина Э.Н., Юнкеров Б.И. Фармакологическая регуляция сродства гемоглобина к газам крови. Тез. докл. I Всесоюзного симпозиума “Фармакологическая коррекция кислородзависимых патологических состояний”. М., 1984. – С. 92–93.

312. Утешев Д.Б., Утешев Б.С. Адгезивные молекулы как лекарственные препараты и объекты фармакологического воздействия при ишемии миокарда и реперфузии // Экспер. и клин. фармакол. – 1997. – Т. 60, № 3. – С. 83–88.

313. Фирсов Н.Н., Острейко К.К., Ремизов Н.А. Деформация эритроцитов в сдвиговом потоке. В сб.: Теоретические, экспериментальные и прикладные исследования биологических систем. М., 1991. – С. 110–118.

314. Харьков Е.И. Внутривенная гелий–неоновая лазеротерапия в комплексном лечении нестабильной стенокардии и инфаркта миокарда. Автореф. дис. докт. мед. наук. – Новосибирск, 1996. – С. 43.

315. Хачатурьян М.Л., Гукасов В.М., Комаров П.Г. и др. Показатели перекисного окисления липидов органов крыс с различной устойчивостью к гипоксии // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 1996. – Т. 121, № 1. – С. 26–29.

316. Ходосовский М.Н., Зинчук В.В. Участие L-аргинин-NO системы в развитии реперфузионных повреждений печени // Экспер. и клин. фармакол. – 2003. – Т. 66, № 3. – С. 39–43.

317. Черницкий Е.А., Воробей А.В. Структура и функция эритроцитарных мембран. – Мн.: Наука и техника, 1981. – 216 с.

318. Чернух А.М., Александров П.Н., Алексеев О.В. Микроциркуляция. – М.: Медицина, 1984. – 432 с.

319. Чилая С.М., Лабадзе М.А., Отверченко В.И. Длительная перфузионная консервация сердца с помощью жидкостно-

мембранных фторуглеродных оксигенаторов. В кн.: Фторуглеродные и газопереносящие среды. – Пущино, 1984. – С.33–39.

320. Чукаев С.А. Оптимизация режимов коррекции антиоксидантного статуса организма при гипоксии с помощью мексидола и пробукола. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Смоленск, 1993. – 22 с.

321. Шабанов В.А., Левин Г.Я., Терехина Е.В. Изменения гемореологии при артериальной гипертензии // В кн.: Реологические исследования в медицине. М., 1998. – С. 84–92.

322. Шамова Е.В. Регуляция функциональных и механических свойств тромбоцитов и эритроцитов донорами азота // Биофизика. – 2011. – Т. 56, № 2. – С. 265–271.

323. Шигина Н.А. Изменение сродства кислорода к гемоглобину при действии низкочастотного импульсного магнитного поля и низкоэнергетического излучения лазера // Физиол. человека. – 2002. – Т. 28, № 5. – С. 134–136.

324. Шмидт Р., Тевс Г. Физиология человека. – М: Мир, 1996. – Т. 2. – С. 507–509.

325. Эпштейн И.М. Скорость деоксигенации эритроцитов в норме и при физических нагрузках и некоторых заболеваниях // В кн.: Оксидотические и аноксидотические процессы при экспериментальной и клинической патологии. – Киев., 1975. – С. 249.

326. Эпштейн И.М., Каплан Е.Я., Чувиллин А.Н. и др. Изучение влияния органических дифосфатов на дезоксигенацию гемоглобина. Тез. докл. 1 Всесоюзн. симпозиума "Фармакологическая коррекция кислородзависимых патологических состояний". М., 1984. – С. 100–101.

327. Якусевич В.В., Муравьев А.В., Суровая Л.Г. Модификация потоковых свойств крови у больных с ИБС и гиперхолестеринемией в ходе терапии симвастатином (вазилипом) // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2002. – № 4. – С. 41–42.

328. Янковская Л.В., Зинчук В.В., Лис М.А. Кислородтранспортная функция крови и дисфункция эндотелия у больных со стенокардией и артериальной гипертензией // Кардиология. – 2007. – Т. 47, № 4. – С. 22–27.

329. Ярошевич Н.А. и др. Сахарный диабет 2 типа и инфаркт миокарда: влияние на заболеваемость и прогноз // Медицинская

панорама. – 2011. – № 3. – С. 38–41.

330. Ярмоненко С.П., Вайнсон А.А., Магдон Э. Кислородный эффект и лучевая терапия опухолей. – М.: Медицина, 1980. – 248 с.

331. Ярыгин Н.Е., Кораблев А.В., Николаева Т.Н. Конструкция системы гемомикроциркуляции: ее моделирование в эмбриогенезе и ремоделирование в условиях патологии. М., Изд-во РГМУ. 2001. – 247 с.

332. Abdel-Zaher A.O. et al. Simvastatin enhances the antihypertensive effect of ramipril in hypertensive hypercholesterolemic animals and patients. Possible role of nitric oxide, oxidative stress, and high sensitivity C-reactive protein // *Fundam. Clin. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 26, № 6. – P. 701–711.

333. Aberkane H., Stoltz J., Galteau M., Wellman M. Erythrocytes as targets for gamma-glutamyltranspeptidase initiated pro-oxidant reaction // *Eur. J. Haematol.* – 2002. – Vol. 68, № 5. – P. 262–271.

334. Adair G.S., Barcroft J., Bock A.V. The identity of haemoglobin in human beings // *J. Physiol.* – 1921. – Vol. 55. – P. 332.

335. Agarwal N., Mojica-Henshaw M.P., Simmons E.D., Hussey D., Ou C.N., Prchal J.T. Familial polycythemia caused by a novel mutation in the beta globin gene: essential role of P50 in evaluation of familial polycythemia // *Int. J. Med. Sci.* – 2007. – Vol. 4, № 4. – P. 232–236.

336. Aitchison K., Coker S. Indomethacin reverses the effect of L-nitroarginine on infarct size in perfused rabbit hearts // *Eur. Heart J.* – 1998. – Vol. 19. – P. 23–23.

337. Alayash A.I. Hemoglobin-based blood substitutes and the hazards of blood radicals // *Free Rad. Res.* – 2000. – Vol. 33. – P. 341–348.

338. Alayash A.I. Hemoglobin-based blood substitutes: oxygen carriers, pressor agents, or oxidants? // *Nature Biotechnology.* – 1999. – Vol. 17. – P. 545–549.

339. Alayash A.I., Fratantoni J.C., Bonaventura C. et al. Consequences of chemical modification on the free radical reactions of human hemoglobin // *Archive of Biochemistry and Biophysics.* – 1992. – Vol. 298. – P. 114–120.

340. Allegra M. et al. The chemistry of melatonin's interaction with reactive species // J. Pineal Res. – 2003. – Vol. 34, № 1. – P. 1–10.
341. Allen J., Rasmussen H. Human red blood cells: Prostaglandin E₂, epinephrine and isoproterenol alter deformability // Science. – 1971. – Vol. 144. – P. 512–516.
342. Altman J.D., Dulas D., Pavsek T. et al. Endothelial function in well developed canine coronary collateral vessels // Am. J. Physiol. – 1993. – Vol. 264. – P. H567–H572.
343. Amberson W. Clinical experience with hemoglobin–saline solutions (Letter) // Science. – 1947. – Vol. 106, № 2745. – P. 117.
344. Anisimov V.N., Popovich I.G., Zabezhinski M.A. et al. Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen // Biochem. Biophys. Acta. – 2006. – Vol. 1757. – P. 573–589.
345. Apstein C.S., Dennis R.C., Briggs L. et al. Effect of erythrocyte storage and oxyhemoglobin affinity changes on cardiac function // Am. J. Physiol. – 1985. – Vol. 248, № 17. – P. 508–517.
346. Arnone A. Mechanism of action of hemoglobin // Am. Rev. Med. – 1974. – Vol. 25. – P. 123–130.
347. Asimov M., Asimov R., Mirshahi M. Effect of laser–induced photodissociation of oxyhemoglobin on biomedical processes // Proc. SPIE. – 2001. – Vol. 4397. – P. 390–394.
348. Aydogan S., Yerer M.B., Yapislari H. *In vitro* effects of melatonin on the filtrability of erythrocytes in SNP–induced oxidative stress // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2004. – Vol. 30, № 3–4. – P. 317–322.
349. Baer R.W. Increased oxyhemoglobin affinity by carbamylation: coronary autoregulation and O₂ transport // Am. J. Physiol. – 1992. – Vol. 263, № 3, Pt. 2. – P. H691–H696.
350. Bageacu V., Dinu V. Effect of certain hexosephosphate esters on haemoglobin affinity for oxygen // Physiologie. – 1980. – Vol. 17, № 2. – P. 159–162.
351. Balla J., Jacob H.S., Balla G. et al. Endothelial–cell heme uptake from heme proteins: induction of sensitization and desensitization to oxidant damage // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1993. – Vol. 90, № 20. – P. 9285–9289.

352. Banerjee D. et al. Exposure of endothelial cells to recombinant human erythropoietin induces nitric oxide synthase activity // *Kidney Int.* – 2000. – Vol. 57, № 5. – P. 1895–1904.

353. Banerjee R., Nageshwari K., Puniyani R. The diagnostic relevance of red cell rigidity // *Clin. Hemorheol. Microcirc.*–1998.– Vol.19, №1. – P. 21–24.

354. Barcroft J., King W.O.R. The effect of temperature on the dissociation curve of blood // *J. Physiol.* – 1909. – Vol. 39, № 10. – P. 374–384.

355. Barjas-Castro M., Brandao M., Fontes A. et al. Elastic properties of irradiated RBCs measured by optical tweezers // *Transfusion.* – 2002. – Vol.42, № 9. – P.1196–1199.

356. Baron J. Blood substitutes haemoglobin therapeutics in clinical practice // *Crit. Care.* – 1999. – Vol.3.–P. 99–102.

357. Baron J., Vicaut E., Stucker O. et al. Effects of inositol hexaphosphate induced high $p50$ on an isolated rabbit heart with free and limited coronary blood flow // *Biomater. Artif. Cells Artif. Organs* – 1988. – Vol. 16, № 1-3. – P.359–361.

358. Baron J., Vicaut E., Stucker O. et al. Cardiac effects of phytic acid induced $p50$ with free and limited coronary blood flow // *Biomater. Artif. Cells Artif. Organs.* –1988–89. –Vol. 16, № 5. – P. 871–885.

359. Barshtein G., Bergelson L., Dagan A. et al. Membrane lipid order of human red blood cells is altered by physiological levels of hydrostatic pressure // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 1997. – Vol. 272, № 1. –P.538–543.

360. Baskurt O.K., Edremitlioglu M., Temiz A. Effect of erythrocyte deformability on myocardial hematocrit gradient // *Am. J. Physiol.* – 1995. – Vol. 268, № 1 Pt 2. – P. H260–H264.

361. Baskurt O.K. The role of spleen in suppressing the rheological alterations in circulating blood // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 1999. – Vol. 20, № 3. – P. 181–188.

362. Bazzoni G., Rasia M. Effect of tetracaine chlorhydrate on the mechanical properties of the erythrocyte membrane // *Blood Cells. Mol. Dis.* – 2001. –Vol. 27, № 2. – P. 391–398.

363. Becker R.C. The role of blood viscosity in the development and progression of coronary artery disease // *Cleve. Clin. J. Med.* – 1993. – Vol. 60, №5. –P.353–358.

364. Begum A., Terao J. Protective effect of alpha-tocotrienol against free radical-induced impairment of erythrocyte deformability // Biocs. Biotechnol. Biochem. – 2002. – Vol. 66, № 2. – P. 398–403.

365. Bellary S.S., Arden W.W., Schwartz R.W. et al. Effect of lipopolysaccharide, leukocytes, and monoclonal anti-lipid A antibodies on erythrocyte membrane elastance // Shock. – 1995. – Vol. 3, № 2. – P. 132–136.

366. Berchner-Pfannschmidt U. et al. Nitric oxide modulates oxygen sensing by hypoxia-inducible factor 1-dependent induction of prolyl hydroxylase 2 // J. Biol. Chem. – 2007. – Vol. 282, № 3. – P. 1788–1796.

367. Berlin G., Challoner K., Woodson R. Low-O₂ affinity erythrocytes improve performance of ischemic myocardium // J. Appl. Physiol. – 2002. – Vol. 92, № 3. – P. 1267–1276.

368. Berntorp K., Berglund S., Johansson B. Effects of some cardioactive drugs on the oxygen affinity of whole blood // Acta. Med. Scand. – 1979. – Vol. 205, № 1-2. – P. 49–52.

369. Besirli K., Aydemir B., Arslan C. et al. Calcium dobesilate may improve hemorheology in patients undergoing coronary artery bypass grafting // Rev. Bras. Cir. Cardiovasc. – 2012. – Vol. 27, № 2. – P. 260–266.

370. Bessis M., Mochandas N. A diffractometric method for the measurement of cellular deformability // Blood Cells. – 1975. – Vol. 1, № 2. – P. 307–315.

371. Betticher D.C., Reinhart W.H., Geiser J. Effect of RBC shape and deformability on pulmonary O₂ diffusing capacity and resistance to flow in rabbit lungs // J. Appl. Physiol. – 1995. – Vol. 78, № 3. – P. 778–783.

372. Bhattacharya A. Red blood cell mechanics // J. Indian Med. Assoc. – 2011. – Vol. 109, № 9. – P. 668–670, 682.

373. Bilot Y. Rheological action of aspirin on human erythrocytes // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 1999. – Vol. 20, № 3. – P. 159–165.

374. Bilot Y., Suboh S. The hemorheological potentials of selected anti-oxidant medicinal plants and flavanoids // 11th International Congress on Biorheology and 4th International Conference on Clinical Hemorheology. Antalia, Turkey. – 2002. – P. 2–31.

375. Biolo A., Greferath R., Siwik D.A., Qin F., Valsky E., Fylaktakidou K.C., Pothukanuri S., Duarte C.D., Schwarz R.P., Lehn J.M.,

Nicolau C., Colucci W.S. Enhanced exercise capacity in mice with severe heart failure treated with an allosteric effector of hemoglobin, myo-inositol trispyrophosphate // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2009. – Vol. 106, № 6. – P. 1926–1929.

376. Bocci V. Determinants of erythrocyte ageing: a reappraisal // Brit. J. Haematol. – 1981. – Vol. 48, № 4. – P.515–522.

377. Boggs D.F., Maginniss L.A. Kilgore D.L. *In vivo* blood oxygen binding in hypoxic lesser spear-nosed bats: relationship to control of breathing // Respiration. Physiol. – 1999. – Vol. 118. – P. 193–202.

378. Bolli R. The early and late phases of preconditioning against myocardial stunning and the essential role of oxyradicals in the late phase: an overview // Basic Res. Cardiol. – 1996. – Vol. 91. – P. 51–63.

379. Bonaventura C., Crumbliss A.L., Weber R.E. New insights into the proton-dependent oxygen affinity of Root effect haemoglobins // Acta. Physiol. Scand. – 2004. – Vol. 182, № 3. – P. 245–258.

380. Bonaventura C., Ferruzzi G., Tesh S., Stevens R.D. Effects of S-nitrosation on oxygen binding by normal and sickle cell hemoglobin // J. Biol Chem. – 1999. – Vol. 274, № 35. – P.24742–2478.

381. Bonneaux F., Dellacherie E., Labrude P., Vigneron C. Hemoglobin–dialdehyde dextran conjugates: improvement of their binding properties with anionic groups // J. Protein Chem. – 1996. – Vol. 15, № 5. – P. 461–465.

382. Boveris A., Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen // Biochem. J. – 1973. – Vol. 134, № 3. – P. 707–716.

383. Bozzo J., Escolar G., Hernandez M. et al. Prohemorrhagic potential of dipyron, ibuprofen, ketorolac and aspirin: mechanisms associated with blood flow and erythrocyte deformability // J. Cardio-vasc. Pharmacol. – 2001. – Vol. 39, № 2. – P. 183–190.

384. Bozzo J., Hernandez M., Galan A. et al. Antiplatelet effects of sodium nitroprusside in flowing human blood: studies under normoxic and hypoxic conditions // Thromb. Res. – 2000. – Vol. 97, №4. – P. 217–225.

385. Branton D., Cohen C.N., Tyler J. Interaction of cytoskeletal proteins on the human erythrocyte membrane // Cell. – 1981. – Vol. 24, № 1. – P. 24–32.

386. Brighenti C., Gnudi G., Avanzolini G. A simulation model of the oxygen alveolo-capillary exchange in normal and pathological conditions // *Physiol. Meas.* – 2003. – Vol. 24. – P. 261–275.

387. Brody J., Han G., Austin R., Bitensky M. Deformation and flow of red blood cells in a synthetic lattice: evidence for an active cytoskeleton // *Biophys. J.* – 1995. – Vol. 68, № 6.–P.2224–2232.

388. Brookes P., Land J., Clark J., Heales S. Stimulation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase by oxyhemoglobin // *FEBS Lett.* – 1997. –Vol. 416, № 1. – P. 90–92.

389. Brown C., Zhao Z., Thomas L. et al. Effects of erythropoietin and aminoguanidine on red blood cell deformability in diabetic azotemic and uremic patients // *Am. Kidney Dis.* – 2001. – Vol. 38, № 6.–P.1414–1420.

390. Brunner H., Hussberger J., Weber B. Control of vascular tone by renin and angiotensin in cardiovascular disease // *Eur. Heart J.* – 1993. – Suppl. 1. – P. 149–153.

391. Buchanan G. Sick cell disease: Recent advances // *Curr. Probl. Pediatr.*– 1993.– Vol.23.– P.219.

392. Buchwald H., O'Dea T., Menchaca H. et al. Effect of plasma cholesterol on red blood cell oxygen transport // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2000. –Vol. 27, № 12. – P. 951–955.

393. Bukowska B., Reszka E., Duda W. Influence of phenoxyherbicides and their metabolites on the form of oxy- and deoxyhemoglobin of vertebrates // *Biochem. Mol. Biol. Int.*– 1998.– Vol.45, №1.– P.47–59.

394. Bunn H., Briehl R. The interaction of 2,3-diphosphoglycerate with various human hemoglobins // *J. Clin. Invest.*– 1970.– Vol.49.– P.1088–1095.

395. Bunn H., Forget B. Hemoglobin: Molecular, Genetic and Clinical Aspects. –W.B. Saunders Company, 1986. –690 p.

396. Burger D. et al. Erythropoietin protects cardiomyocytes from apoptosis via up-regulation of endothelial nitric oxide synthase // *Cardiovasc Res.* – 2006. – Vol. 72, № 1. – P. 51–59.

397. Burges R., Dodd M. Amlodipine // *Cardiovasc. Drug Res.* – 1990. – Vol. 8. – P. 25–44.

398. Cabrales P. Effects of erythrocyte flexibility on microvascular perfusion and oxygenation during acute anemia // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2007. – Vol. 293, № 2. – H1206–1215.

399. Cabrales P., Tsai A.G., Intaglietta M. Increased tissue P_{O_2} and decreased O_2 delivery and consumption after 80% exchange transfusion with polymerized hemoglobin // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2004. – Vol. 287. – H2825–H2833.

400. Cabrales P., Tsai A.G., Intaglietta M. Isovolemic exchange transfusion with increasing concentrations of low oxygen affinity hemoglobin solution limits oxygen delivery due to vasoconstriction // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2008. – Vol. 295, № 5. – H2212–2218.

401. Calapai G. et al. Erythropoietin protects against brain ischemic injury by inhibition of nitric oxide formation // *Eur. J. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 401, № 3. – P. 349–356.

402. Cambier C., Wierinckx M., Clerbaux T., Detry B., Liardet M.P., Marville V., Frans A., Gustin P. Haemoglobin oxygen affinity and regulating factors of the blood oxygen transport in canine and feline blood // *Res. Vet. Sci.* – 2004. – Vol. 77, № 1. – P. 83–88.

403. Campos R., Garrido A., Guerra R. et al. Increased resistance against oxidative stress is observed during a short period of renal reperfusion after a temporal ischaemia // *Free. Radic. Res. Commun.* – 1990. – Vol. 10, № 4-5. – P. 259–264.

404. Cannon R.O., Schechter A.N., Panza J.A. et al. Effects of inhaled nitric oxide on regional blood flow are consistent with intravascular nitric oxide delivery // *J. Clin. Invest.* – 2001. – Vol. 108, № 2. – P. 279–287.

405. Carlsson L.M., Jonsson J., Edlund T. et al. Mice lacking extracellular superoxide dismutase are more sensitive to hyperoxia // *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* – 1995. – Vol. 92, № 14. – P. 6264–6268.

406. Carter T.D., Bettache N., Ogden D. Potency and kinetics of nitric oxide-mediated vascular smooth muscle relaxation determined with flash photolysis of ruthenium nitrosyl chlorides // *Br. J. Pharmacol.* – 1997. – Vol. 122. – P. 971–973.

407. Castilho E., Glass M., Manco J. The effect of 2,3-diphosphoglycerate, adenosine triphosphate and glycosylated hemoglobin on the hemoglobin-oxygen affinity of diabetic patients // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 2003. – Vol. 36, № 6. – P. 731–737.

408. Catalá A. The ability of melatonin to counteract lipid peroxidation in biological membranes // *Curr. Mol. Med.*– 2007. – Vol. 7, № 7. – P. 638–649.

409. Cazzola R., Russo-Volpe S., Cervato G., Cestaro B. Biochemical assessment of oxidative stress, erythrocyte membrane fluidity and antioxidant status in professional soccer players and sedentary controls // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2003. – Vol. 33, № 10. – P. 924–930.

410. Ceconi C., Curello S., Carginoni A. et al. The role of glutathione status in the protection against ischemic reperfusion damage: Effects of N-acetyl cysteine // *J. Moll. Cell. Cardiol.*– 1988.– Vol. 20.– P. 5–13.

411. Chabamel A., Reinhart W., Chien S. Increased resistance to membrane deformation of shape-transformed human red blood cells // *Blood.* – 1987. – Vol. 69, № 3. – P. 739–743.

412. Chan P.H. Oxygen radicals in focal cerebral ischemia // *Brain. Pathol.* – 1994. – Vol. 4, № 1.– P. 59–65.

413. Chance B., Sies H., Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs // *Physiol. Rev.* – 1979. – Vol. 59, № 3. – P. 527–605.

414. Charache S., Weatherall D., Gregg J. Polycythemia associated with hemoglobinopathy // *J. Clin. Invest.*– 1966.– Vol. 45.– P. 813.

415. Chen L., Haught W., Yang B. et al. Preservation of endogenous antioxidant activity and inhibition of lipid peroxidation as common mechanism of atherosclerotic effects of Vitamin E, lovastatin and amlodipine // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 1997. – Vol. 30, № 2.– P. 569–575.

416. Chen X., Feng L., Jin H., Feng S., Yu Y. Quantification of the erythrocyte deformability using atomic force microscopy and hemorheology // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2009. – Vol. 43, № 3. – P. 243–251.

417. Chong Z.Z., Kang J.Q., Maiese K. Hematopoietic factor erythropoietin fosters neuroprotection through novel signal transduction cascades // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2002. – Vol. 22, № 5. – P. 503–514.

418. Chu H., Breite A., Ciruolo P., Franco R.S., Low P.S. Characterization of the deoxyhemoglobin binding site on human erythrocyte

band 3: implications for O₂ regulation of erythrocyte properties // Blood. – 2008. – Vol. 111, № 2. – P. 932–938.

419. Chungi W., Yanjun Z., Weibo K. The influence of calcium ions and ionophore A23187 on microrheological characteristics of erythrocytes by new model ektacytometry // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2001. – Vol. 24, № 1. – P. 19–23.

420. Cicinelli E., Ignarro L.J., Schonauer L.M. et al. Different plasma levels of nitric oxide in arterial and venous blood // Clin. Physiol. – 1999. – Vol. 19, №5. – P. 440–442.

421. Ciuffetti G., Lombardini R., Pirro M. et al. Clopidogrel:hemorheological effects in subjects with subclinical atherosclerosis // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2001. – Vol. 25, № 1. – P. 31–39.

422. Clause D., Detry B., Rodenstein D., Liistro G. Stability of oxyhemoglobin affinity in patients with obstructive sleep apnea–hypopnea syndrome without daytime hypoxemia // J. Appl. Physiol. – 2008. – Vol. 105, № 6. – P. 1809–1812.

423. Clementi M.E., Orsini F., Schinina M.E., Noia G., Giardina B. Effect of nitric oxide on the transport and release of oxygen in fetal blood // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2003. – Vol.302, № 3. – P. 512–519.

424. Clerboux T., Gustin P., Detry B. et al. Comparative studies of the oxyhaemoglobin dissociation curve of four mammals: man, dog, horse and cattle // Comp. Biochem. Physiol. Comp. Physiol. – 1993. – Vol. 106, № 4. – P.687–694.

425. Cockcroft J. Nebivolol: a review // Expert. Opin. Pharmacother. – 2004. – № 4. – P. 893–899.

426. Cohen M., Yang X-M., Liu G. et al. Acetylcholine, bradykinin, opioids, and phenylephrine, but not adenosine , trigger preconditioning by generating free radicals and opening mitochondrial KATP channels // Circ. Res. – 2001. –Vol. 89. – P. 273–278.

427. Cohn J., Johnson G., Zeische S. et al. A comparison of enalapril with hydralazine-isosorbide dinitrate in the treatment of chronic congestive heart failure // N. Engl. J. Med. – 1991. – Vol. 325, № 5. – P. 303–310.

428. Collins J.A., Stechenberg L. The effects of the concentration and function of haemoglobin on the survival of rats after hemorrhage // Surgery. – 1979. – Vol. 85. – P. 412–425.

429. Contaldo C. et al. Erythropoietin enhances oxygenation in

critically perfused tissue through modulation of nitric oxide synthase // Shock. – 2009. – Vol. 31, № 6. – P. 599–606.

430. Coppola D., Bruno S., Ronda L. et al. Low affinity PEGylated hemoglobin from *Trematomus bernacchii*, a model for hemoglobin-based blood substitutes // BMC. Biochem. – 2011. Vol. 12. – P. 66.

431. Coppola L., Giunta R., Verrazzo G. et al. Influence of ozone on hemoglobin oxygen affinity in tipe-2 diabetic patients with peripheral vascular disease: *in vitro* studies // Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl. – 1996. – Vol. 224. – P. 27–45.

432. Cordone L., Cupane A., San Biagio P., Vitrano E. Effect of some monohydric alcohols on the oxygen affinity of hemoglobin: relevance of solvent dielectric constant and hydrophobicity // Biopolymers. – 1979. – Vol. 18, № 8. – P. 1975–1988.

433. Cornum R.L., Martin R.R., Bandy W. Transfusion of phosphoenolpyruvate-treated blood increases oxygen consumption in acute hemorrhage // Am. J. Surg. – 1998. – Vol. 175, № 6. – P. 469–471.

434. Cortese-Krott M.M., Kelm M. Endothelial nitric oxide synthase in red blood cells: Key to a new erythrocrine function? // Redox. Biol. – 2014. – Vol. 9, № 2. – P. 251–258.

435. Crandall E., Critz A., Osher A. et al. Influence of pH on elastic deformability of the human erythrocyte membrane // Am. J. Physiol. – 1978. – Vol. 235, № 5. – P. 269–278.

436. Rice B.H. et al. Dairy components and risk factors for cardiometabolic syndrome: recent evidence and opportunities for future research // Adv. Nutr. – 2011. – Vol. 2, № 5. – P. 396–407.

437. Das D., Engelman R., Maulik N. Oxygen free radical signaling in ischemic preconditioning // Ann. NY Acad. Sci. – 1999. – Vol. 87. – P. 49–65.

438. Datta-Roy A., Ray T.R., Sinha A.K. Control of erythrocyte membrane microviscosity by insulin // Biochim. Biophys. Acta. – 1985. – Vol. 44, № 1. – P. 187–190.

439. Dawson D., Zheng Q., Worthy S. et al. Failure of pentoxifylline or cilostazol to improve blood and plasma viscosity, fibrinogen and erythrocyte deformability in claudication // Angiology. – 2002. – Vol. 53, № 5. – P. 509–520.

440. De Paula E., Meirelles N. Interactions between vasodilator drugs and human hemoglobin // *Braz. J. Med. Biol. Res.*–1992.–Vol. 25, № 6.–P. 557–565.
441. De Rosa M.C., Alinovi C.C., Galtieri .A, Russo A., Giardina B. Allosteric properties of hemoglobin and the plasma membrane of the erythrocyte: new insights in gas transport and metabolic modulation // *IUBMB Life.* – 2008. – Vol. 60, № 2. – P. 87–93.
442. Deem S., Gladwin M.T., Berg J.T. et al. Effects of S-nitrosation of hemoglobin on hypoxic pulmonary vasoconstriction and nitric oxide flux // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* – 2001. – Vol. 163, №5. – P. 1164–1170.
443. Dejam A., Hunter C.J., Tremonti C., Pluta R.M., Hon Y.Y., Grimes G., Partovi K., Pelletier M.M., Oldfield E.H., Cannon R.O., Schechter A.N., Gladwin M.T. Nitrite infusion in humans and nonhuman primates: endocrine effects, pharmacokinetics, and tolerance formation // *Circulation.* – 2007. – Vol. 116, № 16. – P. 1821–1831.
444. Deleuze P.H., Bailleul C., Shiiya N. et al. Enhanced O₂ transportation during cardiopulmonary bypass in piglets by the use of inositol hexaphosphate loaded red blood cells // *Int. J. Artif. Organs.* – 1992. – Vol. 15, № 4. – P. 239–242.
445. Di Napoli P., Taccardi A., Maggi A. et al. Does acute simvastatin administration represent a therapeutic approach in acute myocardial ischemia ? // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1988. – Vol. 30, № 5. – P. A.186.
446. Dietzel J., Hau C., Dugaard N. Effect of the diphosphate ethane 1 hydroxy 1, I diphosphate (EHDP) on hemoglobin oxygen affinity of diabetic and healthy subjects // *Microvasc. Res.* – 1977. – Vol. 13, № 3. – P. 355–361.
447. Dietzel J., Jaeger P., Dyerberg J. Oxygen transport impairment induced by three major cardiovascular risk factors // *Adv. Exp. Med. Biol.*– 1978.– Vol.94.– P.395–399.
448. Dintenfass L. Molecular and rheological considerations of the red cell membrane in view of the internal fluidity of the red cell // *Acta Haematological.* – 1964. – Vol. 32, № 4. – P. 299–313.
449. Discher D., Carl Ph. New insights into red cell network structure? Elasticity and spectrin unfolding – a current review // *Cell. & Mol. Biol. Letters.* –2001. – Vol. 6. – P. 593–606.

450. Dobson M. Oxygen concentrators for district hospitals // Equipment. –1999. – № 10. – Article 11. – P. 1–4.
451. Dong Q., Shen X., Chen J. et al. Effects of simulated weightlessness on erythrocyte deformability in rats // Space. Med. Eng. (Beijing). – 1997. –Vol. 10, № 4. –P.240–244.
452. Doppenberg E.M., Rice M.R., Alessandri B. et al. Reducing hemoglobin oxygen affinity does not increase hydroxyl radicals after acute subdural hematoma in the rat // J. Neurotrauma. – 1999. – Vol.16,№2. – P.123–133.
453. Drake E., Downing M., Malon C. The environmental dependency of the reaction of oxygen with hemoglobin // Arch. Biochem. Biophys. – 1963. –Vol. 100, № 1. –P. 26–31.
454. Driessen G.K., Halest C.W.M., Heidtmann H. et al. Effect of reduced red cell deformability on flow velocity in capillaries of rat mesentery // Pflugers Arch. – 1980. – Vol. 388, № 1. – P. 75–78.
455. Duling B.R. Local control of capillary oxygen transport // Proc. 31st Annu. Conf. Eng. Med. And Biol. – Bethesda, Md. – 1978. – Vol. 20. – P. 387.
456. Dupuy-Fons C., Brun J.F., Mallart C. et al. *In vitro* influence of zinc and magnesium on the deformability of red blood cells artificially hardened by heating // Biol. Trace. Elem. Res. – 1995.– Vol. 47, №1–3.– P. 247–255.
457. d'Uscio L.V., Smith L.A., Santhanam A.V., Richardson D., Nath K.A., Katusic Z.S. Essential role of endothelial nitric oxide synthase in vascular effects of erythropoietin // Hypertension. – 2007. – Vol. 49, № 5. – P. 1142–118.
458. Eaton J.W. Oxygen affinity and environmental adaptation // Ann. New York Acad. Sci. – 1974. – Vol. 241. – P. 491–497.
459. Eaton W., Henry E.R., Hofrichter J., Mozzarelli A. Is cooperative oxygen binding by hemoglobin really understood? // Nat. Struct. Biol. – 1999. – Vol. 6.– P. 353–358.
460. Eckenhoff R.G., Dodia C., Tan Z. et al. Oxygen-dependent reperfusion injury in the isolated rat lung // J. Appl. Physiol. – 1992. – Vol. 72. – P. 1454–1460.
461. Eguchi K., Sawai T., Mizutani Y. et al. Comparative study of erythrocyte deformability in maternal and cord blood // Am. J. Perinatol. – 1995. – Vol. 12, № 1. – P. 39–43.

462. Eichelbronner O., D'Almeida M., Sielencamper A., et al. Increasing $p50$ does not improve Do_{2CRIT} or systemic Vo_2 in severe anemia // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2002. – Vol. 283, № 1. – P. 92–109.

463. Eichelbronner O., Sielencamper A., D'Almeida M. et al. Effect of FIO_2 on hemodynamic responses and O_2 transport during RSR–13– induced reduction in $p50$ // *Am. J. Physiol.* – 1998. – Vol. 227, № 1. – P. 290–298.

464. Engel K., Due G. Effect of iodoacetate and fluoride on the position of the haemoglobin oxygen dissociation curve of human whole blood // *Nature.* – 1968. – Vol. 219, № 157. – P. 936–938.

465. Enomoto A., Takakuva Y., Manno S. et al. Regulation of erythrocyte ghost membrane mechanical stability by chlorpromazine // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2001. – Vol. 151, № 2. – P. 285–290

466. Fantini E., Athias P., Rochette L. Cytoprotection by trimetazidine: assessment of the dose–dependence on ischemic cardiomyocytes // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1998. – Vol. 30, № 5. – P. A9–A9.

467. Farber M.O., Sullivan T.Y., Fineberg N. et al. Effect of decreased O_2 affinity of hemoglobin on work performance during exercise in healthy humans // *J. Lab. Clin. Med.* – 1984. – Vol. 104, № 2. – P. 166–175.

468. Feldmann H., Molls M., Vaupel P. Blood flow and oxygenation status of human tumors. Clinical investigation // *Strahlenther. Onkol.* – 1999. – Vol. 175, № 1. – P. 1–9.

469. Fercakova A., Halat G., Marsala M. et al. Graded postischemic reoxygenation reduces lipid peroxidation and reperfusion injury in the rabbit spinal cord // *Brain. Res.* – 1992. – Vol. 593, № 2. – P. 159–167.

470. Fiocco R., Quattrocchi D., Neirotti M. et al. Effects of temperature on red cell filtration // *Panminerva Med.* – 1984. – Vol. 26, № 3. – P. 193–195.

471. Fisher A.B., Dodia C., Tan Z.T. et al. Oxygen-dependent lipid peroxidation during lung ischemia // *J. Clin. Invest.* – 1991. – Vol. 88, № 2. – P. 674–679.

472. Frehm E.J., Bonaventura J., Gow A.J. S-Nitrosohemoglobin: an allosteric mediator of NO group function in mammalian vasculature // *Free. Radic. Biol. Med.* – 2004. – Vol. 37, № 4. – P. 442–453.

473. Friederichs T., Meiselman H. Effects of calcium permeabilization on RBC rheologic behavior // *Biorheology*. – 1994. – Vol. 31, № 2. – P. 207–215.

474. Frietscii T., Gassmann M., Groth G. et al. Excessive erythrocytosis does not elevate capillary oxygen delivery in subcutaneous mouse tissue // *Microcirculation*. – 2007. – Vol. 14. – P. 111–123.

475. Fuchita J., Tsuda K., Takeda T. et al. Nisoldipine improves the impaired erythrocyte deformability correlating with elevated intracellular free calcium-ion concentration and poor glycaemic control in NIDDM // *Brit. J. Clin. Pharmacol.* – 1999. – Vol. 47, № 5. – P.499–506.

476. Galinanes M., Dunster Ch., Hearse D., Kelly F. Lipid peroxidation: is it a major factor during ischemia and reperfusion? // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1996. – Vol. 28, № 5. – A.77.

477. Garnier M., Hanes M., Paraf A. Reduction of erythrocyte deformability and membrane lipids in liver cirrosis // *Gastro Cl.* – 1983. – Vol. 7, № 51. – A.115.

478. Gaston B., Singel D., Doctor A., Stamler J.S. S-nitrosothiol signaling in respiratory biology // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* – 2006. – Vol. 173, № 11. – P. 1186–1193.

479. Gatsura V.V., Gukasov V.M. Effect of energy-yielding compounds on lipid peroxidation in ischemic myocardium // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1988. – Vol.20, № 1-5. – P.71–71.

480. Gauduel Y., Menasche P., Duvelleroy M. Enzyme release and mitochondrial activity in reoxygenated cardiac muscle: relationship with oxygen-induced lipid peroxidation // *Gen. Physiol. Biophys.* – 1989. – Vol.8, № 4. – P.327–340.

481. George C., Thao Chan M., Weill D. et al. De la deformabilite erythrocytaire a l'oxygenation tissulaire // *Med. actuelle.* – 1983. – Vol. 10, № 3. – P. 100–103.

482. Ghebremeskel K., Crawford M.A., Lowy C. et al. Arachidonic and docosahexaenoic acids are strongly associated in maternal and neonatal blood // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2000. – Vol.54, №1. – P. 50–56.

483. Gianelli S., Lambricht B., Martin M. Spontaneous variability of the hemoglobin affinity for oxygen // *Crit. Care Med.* – 1977. – Vol.5, № 3. – P.150–153.

484. Giardina B., Scatena R., Clementi M.E. et al. Physiological relevance of the overall delta H of oxygen binding to fetal human hemoglobin // J. Mol. Biol. – 1993. – Vol. 229, №2. – P. 512–516.

485. Gladwin M.T., Ognibene F.P., Pannell L.K., Nichols J.S., Pease-Fye M.E., Shelhamer J.H., Schechter A.N. Relative role of heme nitrosylation and beta-cysteine 93 nitrosation in the transport and metabolism of nitric oxide by hemoglobin in the human circulation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2000. – Vol. 97, № 18. – P.9943–9948.

486. Gladwin M.T., Ognibene F.P., Shelhamer J.H., Pease-Fye M.E., Noguchi C.T., Rodgers G.P., Schechter A.N. Nitric oxide transport on sickle cell hemoglobin: where does it bind? // Free. Radic. Res. – 2001. – № 2. – P. 175–180.

487. Gladwin M.T., Shelhamer J.H., Ognibene F.P., Pease-Fye M.E., Nichols J.S., Link B., Patel D.B., Jankowski M.A., Pannell L.K., Schechter A.N., Rodgers G.P. Nitric oxide donor properties of hydroxyurea in patients with sickle cell disease // Br. J. Haematol. – 2002. – Vol. 6, № 2. – P. 436–444.

488. Goldberg R., Florez H. Effects of calcium antagonists on lipids // Calcium antagonists in clinical medicine. (Ed. M. Epstein). – 2nd Ed. – 1998. – P. 359–368.

489. Gonzales N.C., Clancy R.L. Mechanism of the effect of alkalosis on maximum oxygen uptake in hypoxic exercise // Respir. Physiol. – 1992. – Vol. 87, № 2. – P. 243–254.

490. Gonzalez P., Hackney A., Johnes S. et al. A phase I/II study of polymerized hemoglobin in adult patients with sickle cell disease not in crisis at the time of the study // J. Invest. Med. – 1997. – Vol. 45. – P. 258–264.

491. González-Alonso J., Olsen D.B., Saltin B. Model of erythrocyte oxygen sensing under the conditions of normoxia, hypoxia, hyperoxia, and CO+normoxia during exercise // Circ. Res. – 2002. – Vol. 91, № 11. – P. 1046–1055.

492. Goode H.F., Cowley H.C., Walker B.E. et al. Decreased antioxidant status and increased lipid peroxidation in patients with septic shock and secondary organ dysfunction // Crit. Care. Med. – 1995. – Vol. 23. – P. 646–651.

493. Goodford P.G., St-Louis J., Wootton R. A quantitative analysis of the effects of 2,3-diphosphoglycerate, adenosine triphosphate and

inositol hexaphosphate on the oxygen dissociation curve of human haemoglobin // J. Physiol. (Lond.).–1978.– Vol.283.– P.397–407.

494. Gow A.J., Luchsinger B.P., Pawloski J.R. et al. The oxyhemoglobin reaction of nitric oxide // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1999. – Vol. 96, №16. – P. 9027–9032.

495. Grau C., Nordmark M., Khalil A.A. et al. Effect of carbon monoxide breathing on hypoxia and radiation response in the SCCVII tumor *in vivo* // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. – 1994. – Vol. 29, № 3. – P. 449–454.

496. Gross G.J., Warltier D.C., Hardman H.F. Effect of ortho-iodo sodium benzoate on hemoglobin-oxygen affinity in normal and ischemic myocardium // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1977. – Vol. 203, № 1.– P.72–81.

497. Gross S.S., Lane P. Physiological reactions of nitric oxide and hemoglobin: a radical rethink // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1999. – Vol. 96, № 18. – P. 9967–9969.

498. Gryglewski R.J. Pharmacology of vascular endothelium // FEBS. Journal. – 2005. – Vol. 272. – P. 2956–2967.

499. Gudbjarnason S. Acute alterations in energetics of ischemic heart muscle // Cardiology. – 1972. – Vol. 56, № 1–6. – P. 232–244.

500. Gudbjarnason S., Doell B., Oskarsdottir G. Docosaheptaenoic acid in cardiac metabolism and function // Acta. Biol. Med. Ger. – 1978. – Vol. 37, № 5-6. – P. 7–84.

501. Guerra L., Cerbai E., Gessi S. et al. The effect of oxygen free radicals on calcium current and dihydropyridine binding sites in guinea-pig ventricular myocytes // Brit. J. Pharmacol. – 1996. – Vol. 118, № 5. – P. 1278–1284.

502. Gulati A., Barve A., Ananda P. Pharmacology of hemoglobin therapeutics // J. of Lab. & Clin. Med. – 1999. – Vol. 133, № 2.– P.112–119.

503. Gutierrez G., Andry J. Increased hemoglobin O₂ affinity does not improve O₂ consumption in hypoxia (see comments) // J. Appl. Physiol. – 1989. –Vol. 66, № 2. –P.837–843.

504. Gutteridge J.M.C. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage // Clinical Chemistry. – 1995. – Vol. 41, № 12B. – P. 1819–1828.

505. Hakim T.S. Effect of erythrocyte heat treatment on pulmonary vascular resistance // *Microvasc. Res.* – 1994. – Vol. 48, № 1. – P. 13–25.

506. Hamdane D., Kigert L., Devide S. et al. The redox state of the cell regulates the ligand binding affinity of human neuroglobin and cytoglobin // *J. of Biol. Chemistry.* – 2003. – Vol. 278, № 51. – P. 51713–51721.

507. Harris E. Regulation of antioxidant enzymes // *FASEB J.* – 1992. – Vol. 6, № 9. – P. 2675–2683.

508. Hartman J. The role of bradykinin and nitric oxide in the cardioprotective action of ACE inhibitors // *Ann. Thorac. Surg.* – 1995. – Vol. 60, № 3. – P. 789–792.

509. Hartman J., Hullinger T., Wall T., Shebuski B. Reduction of myocardial infarct size by ramiprilat is independent of angiotensin II synthesis inhibition // *Eur. J. Pharmacol.* – 1993. – Vol. 234, № 2-3. – P. 229–236.

510. Hayward R., Campbell B., Shin Y. et al. Recombinant soluble P-selectin glycoprotein ligand-1 protects against myocardial ischemic reperfusion injury in cats // *Cardiovasc. Res.* – 1999. – Vol. 41, № 1. – P. 65–76.

511. Head C.A., Brugnara C., Martinez-Ruiz R., Kacmarek R.M., Bridges K.R., Kuter D., Bloch K.D., Zapol W.M. Low concentrations of nitric oxide increase oxygen affinity of sickle erythrocytes *in vitro* and *in vivo* // *J. Clin. Invest.* – 1997. – Vol. 100, № 5. – P. 1193–1198.

512. Hederson K., McCanse W., Urano T. et al. Acute vs chronic effects of elevated hemoglobin O₂ affinity on O₂ transport in maximal exercise // *J. Appl. Physiol.* – 2000. – Vol. 89, № 1. – P. 265–272.

513. Hermes-Lima M., Storey K.B. Antioxidant and metabolic depression in a pulmonate land snail // *Am. J. Physiol.* – 1995. – Vol. 268. – P. R1386 – R1393.

514. Hess M., Manson N., Okabe E. Involvement of free radicals in the pathophysiology of ischemic disease // *Can. J. Physiol. and Pharmacol.* – 1982. – Vol. 60, № 11. – P. 1382–1389.

515. Hierst D.G., Wood P.J. The influence of hemoglobin affinity for oxygen on tumor radiosensitivity // *Br. J. Cancer.* – 1987. – Vol. 55, № 5. – P. 487–491.

516. Hlutkin S., Zinchuk V. Effect of melatonin on the blood oxygen transport during hypothermia and rewarming in rats // Ann. Acad. Med. Bialostocensis. – 2008. – Vol. 53, № 2. – P. 234–239.

517. Hochmuth R., Worthy P., Evans E. Red cell extensional recovery and the determination of membrane viscosity // Biophys. – 1979. – Vol. 26. – P. 307–310.

518. Hogan M.C., Bebout D.E., Wagner P.D. Effect of increased Hb-O₂ affinity on VO₂max at constant O₂ delivery in dog muscle *in situ* // J. Appl. Physiol. – 1991. – Vol. 70, № 6. – P. 2656–2662.

519. Horina J.H. et al. Increased red cell 2,3-diphosphoglycerate levels in haemodialysis patient treated with erythropoietin // Nephrol. Dial. Transplant. – 1993. – Vol. 8, № 11. – P. 1219–1222.

520. Hoshida S., Tanouchi J., Yamada Y. et al. Ebselen protects the heart against ischemia–reperfusion injury in rabbits // Eur. Heart J. – 1999. – Vol. 20. – P. 159–159.

521. Hrinczenko B.W., Alayash A.I., Wink D.A., Gladwin M.T., Rodgers G.P., Schechter A.N. Effect of nitric oxide and nitric oxide donors on red blood cell oxygen transport // Br. J. Haematol. – 2000. – Vol. 110. – P. 412–419.

522. Hu J.J., Zirvi K.A., Lea M.A. Combined effect of pH and sodium cyanate on the inhibition of tumor cell proliferation and metabolism by BCNU and hyperthermia // Cancer Chemother. Pharmacol. – 1990. – Vol. 26, № 4. – P. 269–272.

523. Hussain S.N., Stewart D.J., Ludemann J.P. et al. Role of endothelium-derived relaxing factor in active hyperemia of the canine diaphragm // J. Appl. Physiol. – 1992. – Vol. 72. – P. 2393–2401.

524. Hyson D., Thompson A., Kappagoda C. Differential and interactive effects of calcium channel blockers and cholesterol content of the diet on jejunal uptake of lipids in rabbits // Lipids. – 1994. – Vol. 29, № 4. – P. 281–287.

525. Ignarro L.J. Experimental evidences of nitric oxide–dependent vasodilatory activity of nebivolol, a third–generation beta-blocker // Blood. Press. Suppl. – 2004. – P. 16.

526. Ihnken K., Morita K., Buckberg G.D. et al. Reduction of reoxygenation injury and nitric oxide production in the cyanotic immature heart by controlling pO₂ // Eur. J. Cardiothorac. Surg. – 1995. – Vol. 9, № 8. – P. 410–418.

527. Imre S.G., Fekete I., Farcas T. Increased proportion of docosahexaenoic acid and high lipid peroxidation capacity in erythrocytes of stroke patients // *Stroke*. – 1994. – Vol. 25, № 12. – P. 2416–2420.

528. Jagger J., Bateman R., Ellsworth M. et al. Role of erythrocyte in regulating local O₂ delivery mediated by hemoglobin oxygenation // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*–2001.– Vol.280.–H.2833–H.2839.

529. James P.E., Miyake M., Swartz H.M. Simultaneous measurement of NO and pO₂ from tissue by *in vivo* EPR // *Nitric Oxide*. – 1999. – Vol. 3, № 4. – P. 292–301.

530. Jelkmann W. Molecular biology of erythropoietin // *Intern. Med.* – 2004. – Vol. 43, № 8. – P.649–659.

531. Jensen F.B. Red blood cell pH, the Bohr effect, and other oxygenation–linked phenomena in blood O₂ and CO₂ transport // *Acta. Physiol. Scand.* – 2004. – Vol. 182, № 3. – P. 215–227.

532. Jia L., Bonaventura C., Bonaventura J., Stramler J. S-nitrosohaemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control // *Nature*. – 1996. –Vol. 380. – P. 221–226.

533. Johansson P. et al. Oxygen affinity is decreased in patients with polycythaemia vera and essential thrombocythaemia // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 2004. – Vol. 64, № 1. – P.71–75.

534. Johe P.D., Østerud B. The *in vivo* effect of melatonin on cellular activation processes in human blood during strenuous physical exercise // *J. Pineal Res.* – 2005. – Vol. 39, № 3. – P. 324–330.

535. Joshi M., Ferguson T., Han T. et al. Nitric oxide is consumed, rather than conserved, by reaction with oxyhemoglobin under physiological conditions // *PNAS*. – 2002. – Vol. 99, № 16. – P. 10341–10346.

536. Juarbe C., Sillan A.H. Muscle capillarity in rats with increased blood oxygen affinity // *Respir. Physiol.* – 1988. – Vol. 71, № 1. – P.83–94.

537. Jurgens K., Papadopoulos S., Peters Th., Gros G. Myoglobin: just an oxygen store or also an oxygen transporter ? // *News Physiol. Sci.* – 2000. – Vol. 15. – P. 269–274.

538. Jurgenssen H.J., Wimberley P.D., Brodthagen U. Oxyhemoglobin equilibration and chronic beta–adrenoreceptor blockade in coronary heart disease // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 1983. – Vol. 16, № 1. – P.33–38.

539. Kacmarek R. Delivery systems for long-term oxygen therapy // *Respiratory Care*. – 2000. – Vol. 45, № 1. – P. 84–94.

540. Kalra R., Bremner J.C., Wood P.J. et al. 31H MRS to monitor the induction of tumor hypoxia by the modification of the oxygen affinity of hemoglobin using BW 589C // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 1994. – Vol. 29, № 2. – P. 285–288.

541. Kambam J., Chen L., Hyman S. Effect of short-term smoking halt on carboxyhemoglobin levels and values // *Anesthesiology*. – 1986. – Vol. 65, № 11. – P. 1186–1188.

542. Kameneva M.V., Undar A., Antaki J.F. et al. Decrease in blood cell deformability caused by hypothermia, hemodilution, and mechanical stress: factors related to cardiopulmonary bypass // *ASAIO. J.* – 1999. – Vol. 45, № 4. – P. 307–310.

543. Kassa T.W., Zhang N., Palmer A.F., Matthews J.S. Design, synthesis, and activity of 2,3-diphosphoglycerate analogs as allosteric modulators of hemoglobin O₂ affinity // *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* – 2013. – Vol. 41, № 2. – P. 109–115.

544. Kavanach B.D., Khandelwal S.R., Schmidt-Ulrich R.K. et al. A phase I study of RSR13, a radiation-enhancing hemoglobin modifier: tolerance of repeated intravenous doses and correlation of pharmacokinetics with pharmacodynamics // *Int. J. Radiation. Oncology. Biol. Phys.* – 2001. – Vol. 49, № 4. – P. 1133–1139.

545. Ke Q., Costa M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) // *Mol. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 70, № 5. – P. 1469–1480.

546. Kelm M. Nitric oxide metabolism and breakdown // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 1999. – № 1411. – P. 273–289.

547. Kelm V., Rath J. Endothelial dysfunction in human coronary circulation: relevance of the L-arginine–NO pathway // *Basic. Res. Cardiol.* – 2001. – Vol. 96. – P. 107–127.

548. Keymel S., Heiss C., Kleinbongard P. et al. Impaired red blood cell deformability in patients with coronary artery disease and diabetes mellitus // *Horm. Metab. Res.* – 2011. – Vol. 43, № 11. – P. 760–765.

549. Khandelwal S.R., Randad R.S., Lin P.S. et al. Enhanced oxygenation in vivo by allosteric inhibitors of hemoglobin saturation // *Am. J. Physiol.* – 1993. – Vol. 265, № 4, Pt. 2. – P. H1450–H1453.

550. Khder Y., des Boses L., Ghawi R. et al. Calcium antagonists and thiazide diuretics have opposite effects on blood rheology and

radial artery compliance in arterial hypertension: a randomized double-blind study // Fund. Clin. Pharmacol. – 1998. – Vol. 12, № 4.

–

P.457–462.

551. Kieseewetter H., Dauer M., Teitel P. et al. The single erythrocyte rigidometer (SER) as a reference for RBC deformability // Biorheology. – 1982. – Vol. 19. – P. 737–753.

552. Kikuchi Y., Da Q., Fujino T. Variation in red blood cell deformability and possible consequences for oxygen transport to tissue // Microvasc. Res. – 1994. – Vol. 47, № 2. – P.222–231.

553. Kikugawa K., Kosugi H., Asakura T. Effect of malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, on the function and stability of hemoglobin // Arch. Biochem. Biophys. – 1984. – Vol. 229, Feb. – P.7–14.

554. Kilgore K.S., Shwartz C.F., Gallagher M.A., Steffen R.P., Mosca R.S., Bolling S.F. RSR13, a synthetic allosteric modifier of hemoglobin, improves myocardial recovery following hypothermic cardiopulmonary bypass // Circulation. – 1999. – Vol. 100, № 19. – P. II351–II356.

555. Kinnula V.L., Mirza Z., Crapo J.D., Whorton A.R. Modulation of hydrogen peroxide release from vascular endothelial cells by oxygen // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. – 1993. – Vol. 603. – P. 1044–1049.

556. Kishi F., Nishiura Y., Kamada A., Kawakami Y. Pharmacological effects on hemoglobin-oxygen affinity *in vitro* and in patients with chronic obstructive pulmonary disease // Adv. Exp. Med. Biol. – 1988. – Vol. 222. – P. 341–347.

557. Klausen T. et al. Human erythropoietin response to hypocapnic hypoxia, normocapnic hypoxia, and hypocapnic normoxia // Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol. – 1996. – Vol. 74, № 5. – P.475–480.

558. Klawitter P., Murrey H., Clanton Th., Angelos M. Reactive oxygen species generated during myocardial ischemia enable energetic recovery during reperfusion // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2002. – Vol. 283, № 4. – P.1656–1661.

559. Kleinbongard P., Keymel S., Kelm M. New functional aspects of the L-arginine-nitric oxide metabolism within the circulating blood // Thromb. Haemost. – 2007. – Vol. 98. – P. 970–974.

560. Kleinbongard P., Schulz R., Rassaf T. et al. Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase // *Blood*. – 2006. – Vol.107, № 7. – P. 2943–2951.

561. Kobayashi H., Piiper J., Scheid P. Effect of the curvature of the O₂ equilibrium curve on alveolar O₂ uptake: theory // *Respir. Physiol.* – 1991. – Vol. 83. – P. 255–260.

562. Koc M., Buyukokuroglu M.E., Taysi S. The effect of melatonin on peripheral blood cells during total body irradiation in rats // *Biol. Pharm. Bull.* – 2002. – Vol. 25, № 5. – P.656–657.

563. Koehler R.C., Fronticelli C., Bucci E. Insensitivity of cerebral oxygen transport to oxygen affinity of hemoglobin-based oxygen carriers // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2008. – Vol. 1784, № 10. – P. 1387–1394.

564. Koenig H., Vedvick T. Alpha thalassemia in American born Filipino infants // *J. Pediatr.* – 1976. – Vol. 87, № 5. – P. 756–758.

565. Kohzuki H., Enoki Y., Sakata S. et al. High affinity of blood for oxygen reduces oxygen uptake in contracting canine gracilis muscle // *Exp. Physiol.* – 1994. – Vol. 79, № 1. – P.71–80.

566. Kohzuki H., Enoki Y., Shimizu S. et al. High blood O₂ affinity and relationship of O₂ uptake and delivery in resting muscle // *Respir. Physiol.* – 1993. – Vol. 92, № 2. – P. 197–208.

567. Konorova I.L., Veiko N.N., Novikov V.E. Influence of plasma DNA on acid–base balance, blood gas measurement, and oxygen transport in health and stroke // *Ann. NY. Acad. Sci.* – 2008. – Vol. 1137. – P. 278–282.

568. Korbut R., Adamek-Guzik T. The effect of aspirin on rheological properties of erythrocytes in essential hypertension // *Przegl. Lek.* – 2002. – Vol. 59, № 2. – P.71–75.

569. Korbut R., Adamek-Guzik T., Madej J. et al. Endothelial secretagogues and deformability of erythrocytes // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 53, № 4. – P.655–665.

570. Kosaka H., Seiyama A. Physiological role of nitric oxide as an enhancer of oxygen transfer from erythrocytes to tissues // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1996. – Vol. 218, № 3. – P. 749–752.

571. Koster R., Hamm C., Terres W. et al. Long-term results of laser angioplasty for in-stent restenosis // *Eur. Heart J.* – 1998. – Vol. 19. – P. 114.

572. Kostic M.M., Schrader J. Role of nitric oxide in reactive hyperemia of the guinea pig heart // *Circ. Res.* – 1992. – Vol. 70. – P. 208–212.

573. Kostuk W., Suwa K., Bernstein E., Sobel B. Altered hemoglobin affinity in patients with acute myocardial infarction // *Am. J. Cardiol.* – 1973. – Vol. 31, № 3. – P. 295–299.

574. Koudelova J., Mourek J. The lipid peroxidation in various parts of the rat brain: effect of age, hypoxia and hyperoxia // *Physiol. Res.* – 1994. – Vol. 43, № 3. – P. 169–173.

575. Kourembanas S., Marsden P.A., McQuillan L.P., Faller D.V. Hypoxia induces endothelin gene expression and secretion in cultured human endothelium // *J. Clin. Invest.* – 1991. – Vol. 88, № 3. – P. 1054–1057.

576. Kourembanas S., Morita T., Christou H. Hypoxic responses of vascular cells // *Chest.* – 1998. – Vol. 114. – P. 25S–28S.

577. Koutsouris D., Delatour-Hanss E., Hanss M. Physicochemical factors of erythrocyte deformability // *Biorheology.* – 1985. – Vol. 22, № 2. – P. 119–132.

578. Kovacs E. He-Ne laser radiation effects on the membrane of human erythrocytes // *Proc. SPIE.* – 1996. – Vol. 2630. – P. 30–37.

579. Krall M., Briston J., Welch T., Metcalfe J. Physiological effects of lowered blood oxygen affinity in dogs // *Respirat. Physiol.* – 1978. – Vol. 33. – P. 263–270.

580. Kremser K., Kovacs W., Stangl H. Peroxisomale Erkrankungen-Sauerstoff und freie Radikale // *Wien. Klin. Wochenschr.* – 1995. – Vol. 107, № 22. – P. 690–693.

581. Kreuzer F., Hoofd L. Facilitated diffusion of oxygen: possible significance in blood and muscle // *Oxygen Transp. Tissue 5 Proc. Meet.* – Dortmund, 1982. – P. 3–21.

582. Kucera W., Meier W., Lerche D. Einfluss thermisch induzierter Veränderungen mechanischer Membraneigenschaften auf die Filtrierbarkeit menschlicher Erythrozyten // *Biomed. Biochim. Acta.* – 1986. – Vol. 45, № 3. – P. 353–358.

583. Kucukatay V., Bor-Kucukatay M., Baskurt O. Effect of sodium metabisulfite ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) on erythrocyte deformability // 11th International Congress on Biorheology and 4th International Conference on Clinical Hemorheology. Antalia, Turkey. – 2002. – P. 2–27.

584. Kuller L. A time to stop prescribing antioxidant vitamins to prevent and treat heart disease? // *Arterioscler. Tromb.Vasc.Biol.* – 2001. – Vol.21. – P.1253.

585. Kumar M., Liu G.J., Floyd R.A. et al. Anoxic injury of endothelial cells increases production of nitric oxide and hydroxyl radicals // *Biochemical and Biophysical Research Communications.* – 1996. – Vol. 219, № 2. – P. 497–501.

586. Kusmic C., Picano E., Busceti C. et al. The antioxidant drug dipyridamole spares the vitamin E and thiols in red blood cells after oxidative stress // *Cardiovasc. Res.* – 1999. – Vol. 47, № 3. – P.510–514.

587. La Celle P.L., Kirkpatrick F.H. Determinants of erythrocyte membrane elasticity // Brewer G.J. ed. *Erythrocyte structure and function.* New York, Liss. – 1975. – Vol. 1. – P. 535–557.

588. LaBrake C., Fung L. Phospholipid vesicles promote human hemoglobin oxidation // *J. Biol. Chem.* – 1992. – Vol. 267, № 23. – P.16703–16711.

589. Lacan P., Kister J., Francina A. et al. Hemoglobin Debrousse (beta 96[FG3]Leu-Pro): a new unstable hemoglobin with twofold increased oxygen affinity // *Am. J.Hematol.* – 1996. – Vol. 51, № 4. – P. 276–281.

590. Lafferty J., Ali M., Matthew K. et al. Identification of a new high oxygen affinity variant: Hb Aurora [beta 139 (H17) Asn–Tyr] // *Hemoglobin.* – 1995. – Vol. 19, № 6. – P. 335–341.

591. Lalezari I., Lalezari P., Poyart C et al. New effectors of human hemoglobin: structure and function // *Biochemistry.* – 1990. – Vol. 29, № 6. – P. 1515–1523.

592. Lauer T., Preik M., Rassaf T. et al. Plasma nitrite rather than nitrate reflects regional endothelial nitric oxide synthase activity but lacks intrinsic vasodilator action // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2001. – Vol. 98, № 22. – P. 12814–12819.

593. Lawrence D.A., Colinas R.J., Walsh A.C. Influence of oxygen partial pressure on human and mouse myeloid cell line characteristics // *Fundamental and Applied Toxicology.* – 1996. – Vol. 29, № 2. – P. 287–293.

594. LeCras T.D., McMurtry I.F. Nitric oxide production in the hypoxic lung // *Am. J. Physiol.* – 2001. – Vol. 280, № 4. – P. L575–L582.

595. Liard J.F., Kunert M.P. Hemodynamic changes induced by low blood oxygen affinity in dogs // *Am. J. Physiol.* – 1993. – Vol. 264, № 2. – P. 396–401.

596. Lichtman M., Cohen J., Murphy M. et al. Effect of propranolol on oxygen binding to hemoglobin *in vitro* and *in vivo* // *Circulation.* – 1974. – Vol. 49. – P. 881–886.

597. Lin W., Mota de Freitas D., Zhang O., Olsen K. Nuclear magnetic resonance and oxygen affinity study of cesium binding in human erythrocytes // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1999. – Vol. 369, № 1. – P.78–88.

598. Linderkamp O., Ruef P., Zilow E.P. et al. Impaired deformability of erythrocytes and neutrophils in children with newly diagnosed insulin-dependent diabetes mellitus // *Diabetologia.* – 1999. – Vol. 42, № 7. – P. 865–869.

599. Lipovac V., Gavella M., Vucic M. et al. Effect of creatine on erythrocyte rheology *in vitro* // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2000. – Vol. 22, № 1. – P. 45–52.

600. Lissi E., R. Franz, J. Cabezas et al. Effects of antioxidants and haemoglobin status on the t-butyl hydroperoxide-induced oxygen uptake by red blood cells // *Cell. Biochem. Funct.* – 1986. – Vol. 4, № 1. – P. 61–68.

601. Liu X., Miller M.J., Joshi M.S., Sadowska-Krowicka H., Clark D.A., Lancaster J.R. Diffusion-limited reaction of free nitric oxide with erythrocytes // *J. Biol. Chem.* – 1998. – Vol. 273, № 30. – P. 18709–18713.

602. Lopaschuk G., Kozak R. Trimetazidine inhibits fatty acid oxidation in the heart // *J. Mol. Cell. Cardiology.* – 1998. – Vol. 30, № 5. – P. A112.

603. Lundby C. et al. Does recombinant human Epo increase exercise capacity by means other than augmenting oxygen transport? // *J. Appl. Physiol.* – 2008. – Vol.105, № 2. – P.581–587.

604. Luo X., Duan P., Gao S. Influence of low-level laser radiation on erythrocyte membranes // *Proc. SPIE.* – 2002. – Vol. 4916. – P. 140–142.

605. Maillard D., Fleury B., Housset B., Laffoni S. Decreased oxyhemoglobin affinity in patients with sleep apnea syndrome // *Am. Rev. Respir. Dis.* –1991. – Vol. 143, № 3. –P.486–489.

606. Mairbaurl H., Oelz O., Bartsch P. Interactions between Hb, Mg, DPG, ATP, and Cl determine the change in Hb-O₂ affinity at high altitude // J. Appl. Physiol. – 1993. – Vol. 74, № 1. – P. 40–48.

607. Mairbäurl H., Weber R.E. Oxygen transport by hemoglobin // Compr. Physiol. – 2012. – Vol. 2, № 2. – P.1463–1489.

608. Maletic S.D., Drsgicevic-Djorovic L. M. et al. Effects of nitric oxide donors on energy metabolism of rat erythrocytes // Journal of Environmental Pathology. Toxicology and Oncology. – 2000. – Vol. 19, № 4. – P. 383–390.

609. Malmberg P.O., Hlastala M.P., Woodson R.D. Effect of increased blood-oxygen affinity on oxygen transport in hemorrhagic shock // J. Appl. Physiol. – 1979. – Vol. 47, № 4. – P. 889–895.

610. Mannini L., Marcucci R., Panicia R. et al. Erythrocyte deformability and white blood cell count are associated with aspirin resistance in high-risk vascular patients // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2006. – Vol. 35, № 1–2. – P.175–181.

611. Mannix E., Palange P., Magnes C. et al. *In vivo* deleterious effects of a right shift of the HbO₂ curve during hypoxemia // J. Surg. Res. – 1993. – Vol. 55, № 1. – P. 9–13.

612. Marden M., Bohn B., Kister J., Poyart C. Effectors of hemoglobin. Separation of allosteric and affinity factors // Biophys. J. – 1990. – Vol. 57, №3. – P.397–403.

613. Mark M., Walter R., Harris L., Reinhart W. Influence of parathyroid hormone, calcitonine, 1,25 (OH)₂ cholecalciferol, calcium and the calcium ionophore A23187 on erythrocyte morphology and blood viscosity // J. Lab. Clin. Med. – 2000. – Vol. 135, № 4. – P. 347–352.

614. Marotta F., Safran P., Tajiri H. et al. Improvement of hemorheological abnormalities in alcoholics by an oral antioxidant // Hepatogastroenterology. – 2001. – Vol. 48. – P. 511–517.

615. Martinez M., Vaya A., Labios M. et al. The effect of long-term treatment with hypotensive drugs on blood viscosity and erythrocyte deformability in patients with essential arterial hypertension // Clin. Hemorheol. Microcirc. –1997. – Vol. 17, № 3. –P.193–198.

616. Mason R., Trumbore M., Mason P. Membrane biophysical interaction of amlodipine and antioxidant properties // Drugs. – 2000. – Vol. 59, № 2. – P. 9–16.

617. Matsuzaki K., Takano H., Tokunaga K. et al. Clinical application of phosphoenolpyruvate (PEP) to autologous transfusion of patients with open heart surgery // Fukuoka Igaku Zasshi. – 1993. – Vol. 84, № 1. – P. 7–14.

618. McCord J.M. Superoxide radical: controversies, contradictions, and paradoxes // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1995. – Vol. 209, № 2. – P. 112–117.

619. McDonald V.W., Winslow R.M. Oxygen delivery and myocardial function in rabbit hearts perfused with cell-free hemoglobin // J. Appl. Physiol. – 1992. – Vol. 72, № 2. – P. 476–483.

620. McGuire B.J., Secomb T.W. Theoretical predictions of maximal oxygen consumption in hypoxia: effects of transport limitations // Respir. Physiol. Neurobiol. – 2004. – Vol. 143, № 1. – P. 87–97.

621. McMahon T.J. et al. Nitric oxide in the human respiratory cycle // Nat. Med. – 2002. – Vol. 8. – P. 711–717.

622. McMahon T.J., Doctor A. Extrapulmonary effects of inhaled nitric oxide: role of reversible S-nitrosylation of erythrocytic hemoglobin // Proc. Am. Thorac. Soc. – 2006. – Vol. 3, № 2. – P. 153–160.

623. McMahon T.J., Stone A.E., Bonaventura J., Singel D.J., Stamler J.S. Functional coupling of oxygen binding and vasoactivity in S-nitrosohemoglobin // J. Biol. Chem. – 2000. – Vol. 275, № 22. – P. 16738–16745.

624. Mejia M., Gerstenblith G., Chacko V. et al. Preservation of high-energy phosphates with an allosteric modifier of haemoglobin-oxygen affinity during low-flow ischemia in the open-chest dog // Circulation. – 1996. – Vol. 94, № 8. – Supp. 1. – P. 67.

625. Mesquita R., Picarra B., Saldanha C., Martins e Silva. Nitric oxide effects on human erythrocytes structural and functional properties an *in vitro* study // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2002. – Vol. 27, № 2. – P. 137–147.

626. Mesquita R., Pires I., Saldanha C. Effects of acetylcholine and spermine NONOate on erythrocyte hemorheology carrying properties // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2001. – Vol. 25, № 3-4. – P. 153–163.

627. Meyburg J., Bohler T., Linderkamp O. Decreased mechanical stability of neonatal red cell membrane quantified by measurement of the elastic area compressibility modulus // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2000. – Vol. 22, № 1. – P. 67–73.

628. Michiels C., Raes M., Toussaint O. et al. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress // Free Radic. Biol.Med. – 1994. – Vol. 17, № 3. – P. 235–248.

629. Milbrink J. et al. Preoperative autologous donation of 6 units of blood during rh-EPO treatment // Can. J. Anaesth. – 1997. – Vol. 44, № 12. – P. 1315–1318.

630. Miller Y.I., Altamentova S.M., Shaklai N. Oxidation of low-density lipoprotein by hemoglobin stems from a heme-initiated globin radical: antioxidant role of haptoglobin // Biochemistry. – 1997. – Vol. 36, № 40. – P. 12189–12198.

631. Minetti M., Agati L., Malorni W. The microenvironment can shift erythrocytes from a friendly to a harmful behavior: pathogenetic implications for vascular diseases // Cardiovasc. Res. –2007. – Vol. 75, № 1. – P. 21–28.

632. Miyzaki G., Moromoto H., Yun K. et al. Magnesium (110) and zinc (11)-protoporphyrin IX's stabilize the lowest oxygen affinity state of human hemoglobin even more strongly than deoxyheme // J. Mol. Biol. – 1999. – Vol. 292, № 5. –P.1121–1136.

633. Mocanu M., Gadgil S., Yellon O., Baxter G. Mibefradil, a T-type and L-type calcium channel blocker, limits infarct size through glibenclamide-sensitive mechanism // Cardiovasc. Drugs Ther.– 1999.–Vol.13, №2.–P.115–122.

634. Mohandas N., Chasis J.A., Shobet S.B. The influence of membrane skeleton on red cell deformability, membrane material properties and shape // Sem. in Hematology. – 1983. – Vol. 20, № 3. – P. 225–242.

635. Mollnau H., Schulz E., Daiber A. et al. Nebivolol prevents vascular NOS III uncoupling in experimental hyperlipidemia and inhibits NADPH oxidase activity in inflammatory cells. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2003. – Vol. 23, № 4. – P. 615–621.

636. Morgan T., Koch D., Morris D. et al. Reduced red cell 2,3-diphosphoglycerate concentrations in critical illness without decreased *in vivo*p50 //Anaesth. Intensive Care. – 2001. – Vol. 29, № 5. – P. 479–483.

637. Moriguchi T., Takasugi N., Itakura Y. The effects of aged garlic extract on lipid peroxidation and the deformability of erythrocytes // J. Nutr. – 2001. – Vol. 131, № 3. – P. 1016–1019.

638. Morimoto M., Feo C.J. Effect des corps de Heinz produits *in vitro* sur la deformabilite des erythrocytes. Mesure par une technique diffractometrique (ektacytometre). Resultats preliminaires // Nouv. rev. franc. hematol. – 1980. – Vol. 22, № 1. – P. 53–57.

639. Mulhausen R. Effect of high CO₂ tension on banked ACD blood. Metabolism // list.–1963.–Vol. 13.– P.80.

640. Mulhausen R., Astrup P., Kjeldsen K. Oxygen affinity of hemoglobin in patients with cardiovascular diseases, anemia an cirrosis of the liver // Scand. J. Clin. Lab. Invest. – 1967. – Vol. 19, № 3. – P.291–297.

641. Muravyov A., Tikhomirova I., Yakusevich V. et al. Comparison of the effects of ACE-inhibitor fosinopril and simvastatin therapy on hemorheological profiles in hypertensive patients // 11th International Congress on Biorheology and 4th International Conference on Clinical Hemorheology. Antalia,Turkey.–2002.– P.2–30.

642. Museilak M. Red blood cell deformability measurement: review of techniques // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2009. – Vol. 42, № 1. –P.47–64.

643. Mynbaev O.A., Adamyan L.V., Mailova K., Vanacker B., Koninckx P.R. Effects of adding small amounts of oxygen to a carbon dioxide-pneumoperitoneum of increasing pressure in rabbit ventilation models // Fertil. Steril. – 2008. Sep 26. [Epub ahead of print].

644. Nakamura T., Shiotani A., Watanabe T. The effects of fatty acid hydroperoxide on respiration and oxidative phosphorylation of heart mitochondria // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1980. – Vol. 12, № 1. – P. 112–112.

645. Nash G.B., Mesielman H.J. Alteration of the cell membrane viscoelasticity by heat treatment: effect on cell deformability and suspension viscosity // Biorheology. – 1985. – Vol. 22, № 1. – P. 73–84.

646. Naslund U., Haggmark S., Johansson G. et al. The therapeutic window of SOD-induced limitation of myocardial infarct size in low-collateralised porcine reperfusion model // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1988. – Vol. 20, № 5.– P.25–25.

647. Nayler W. Amlodipine // Clin. Drug Invest. – 1997. – Vol. 13, № 1. – P. 1–11.

648. Nebivolol: impact on cardiac and endothelial function and

clinical utility / J.E. Toblli [et al.] // Vasc. Health. Risk. Manag. – 2012. – Vol. – P. 151–160.

649. Neely J., Morgan H. Utilization of carbohydrate and fatty acids in the heart // Ann. Rev. Physiol. – 1973. – Vol. 35. – P. 413–452.

650. Neville J., Clemmer T. Hemoglobin-oxygen affinity in organic heart disease // Adv. Exp. Med. Biol. – 1978. – Vol. 94. –

651. P. 443–449.

652. Nevins M. Oxyhemoglobin equilibrium in ischemic heart disease // JAMA. – 1974. – Vol. 229. – P. 804–808.

653. Nie X., Wen Z., Yan Z. et al. Effects of morphine on rheological properties of rat blood cells // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2000. – Vol. 22, №3. – P. 189–195.

654. Norton J., Smith R. Drugs acting on hemoglobin and the oxygen transport system // Pharmac. Ther. – 1976. – Vol. 2. – P. 523–538.

655. Numoto N., Nakagawa T., Kita A., Sasayama Y., Fukumori Y., Miki K. Structural basis for the heterotropic and homotropic interactions of invertebrate giant hemoglobin // Biochemistry. – 2008. – Vol. 47, № 43. – P. 11231–11238.

656. Olearczyk J.J., Stephenson A.H., Lonigro A.J., Sprague R.S. NO inhibits signal transduction pathway for ATP release from erythrocytes via its action on heterotrimeric G protein G_1 // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2004. – Vol. 287. – H748–H754.

657. Oleson J.R. Eugene Robertson Special Lecture. Hyperthermia from the clinic to the laboratory: a hypothesis // Int. J. Hyperthermia. – 1995. – Vol. 11, № 3. – P. 315–322.

658. Othman A.I., al Sharawy S., el-Missiry M.A. Role of melatonin in ameliorating lead induced haematotoxicity // Pharmacol. Res. – 2004. – Vol. 50, № 3. – P. 301–307.

659. Ozüyan B., Grau M., Kelm M., Merx M.W., Kleinbongard P. RBC NOS: regulatory mechanisms and therapeutic aspects // Trends. Mol. Med. – 2008. – Vol. 14, № 7. – P. 314–322.

660. Packer M., Nicod P., Khandheria B. et al. Randomized multicenter, double-blind, placebo-controlled evaluation of amlodipine in patients with mild-to-moderate heart failure [abstract] // J. Am. Coll. Cardiol. – 1991. – Vol. 17. – Suppl. A. – P. 274 A.

661. Pagonopoulou O. et al. Erythropoietin and growth factors exhibit differential angiogenic potential in mouse heart // *In vivo*. – 2008. – Vol. 22, № 5. – P. 587–591.

662. Papassotiriou I., Kister J., Griffon N. et al. Synthesized allosteric effectors on the hemoglobin molecule: a possible mechanism for improved erythrocyte oxygen release capability in hemoglobinopathy H disease // *Exp. Hematol.* – 1998. – Vol. 26, № 10. – P. 922–926.

663. Parpart A., Hofman J. Flicker in erythrocyte. Vibrator movement in cytoplasm ? // *J. Cell. and Compar. Physiol.* – 1956. – Vol. 47, № 2. – P. 295–303.

664. Parthasarathi K., Lipowsky H. Capillary recruitment in response to tissue hypoxia and its dependence on red blood cell deformability // *Am.J. Physiol.* – 1999. – Vol. 277. – № 6. – P. 2145–2157.

665. Pasterkamp G., Virmani R. The erythrocyte: a new player in atheromatous core formation // *Heart*. – 2002. – Vol. 88. – P. 115–116.

666. Patel R.P., Hogg N., Spencer N.Y., Kalyanaraman B., Matallou S., Darley-Usmar V.M. Biochemical characterization of S-nitrosohemoglobin effects on oxygen binding and transnitrosation // *J. Biol. Chem.* – 1999. – Vol. 274, № 22. – P. 15487–15492.

667. Paulitschke M., Nash G., Anstee D. et al. Perturbation of red blood cell membrane rigidity by extracellular ligands // *Blood*. – 1995. – Vol. 86, № 1. – P. 342–348.

668. Pawloski J.R., Hess D.T., Stamler J.S. Impaired vasodilation by red blood cells in sickle cell disease // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. – 2005. – Vol. 102, № 7. – P. 2531–2536.

669. Perondi R., Saino A., Zanchetti A. et al. Coronary vascular reactivity and calcium antagonist therapy in patients with angina // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 1994. – Vol. 24. – Suppl. A. – P. 30–36.

670. Perutz M., Poyart C. Bezafibrate lowers oxygen affinity of haemoglobin // *Lancet*. – 1983. – № 2. – P. 881–882.

671. Petty C., Bageant T. The effect of morphine, meperidine, fentanyl and naloxone on the oxyhemoglobin dissociation curve // *J. Pharmac. exp. Ther.* – 1974. – Vol. 190. – P. 176–179.

672. Pfafferoth C., Moessmer G., Ehrly A., Bauersachs R. Involvement of erythrocyte aggregation and erythrocyte resistance to flow in acute coronary syndromes // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 1999. – Vol. 21, № 1. – P. 35–43.

673. Pietraforte D., Salzano A.M., Marino G., Minetti M. Peroxynitrite-dependent modifications of tyrosine residues in hemoglobin. Formation of tyrosyl radical(s) and 3-nitrotyrosine // *Amino. Acids.* – 2003. – Vol. 25. – P. 341–350.

674. Piomelli S., Seaman C. Mechanisms of red blood cell aging: relationship of cell density and cell age // *Am. J. Hematol.* – 1993. – № 42. – P. 46–52.

675. Pohl U., Wagner K., de Wit C. Endothelium - derived nitric oxide in the control of tissue perfusion and oxygen supply: physiological and pathophysiological implications // *Heart J.* – 1993. – Vol. 14, № 1. – P. 93–98.

676. Pronko T.P., Zinchuk V.V. Effect of nebivolol on blood oxygen transport indices and endothelial dysfunction in patients with arterial hypertension // *Clin. Physiol. Funct. Imaging.* – 2009. – Vol. 29, № 3. – P. 170–176.

677. Prouchayret F., Dellacherie E. Low oxygen affinity derivatives of human hemoglobin by fixation of polycarboxylic dextran to the oxyform // *Biopolymers.* – 1993. – Vol. 33, № 12. – P. 1803–1809.

678. Puntarulo S., Cederbaum A.I. Effect of oxygen concentration on microsomal oxidation of ethanol and generation of oxygen radicals // *Biochem. J.* – 1988. – Vol. 251. – P. 787–794.

679. Racca A., Biondi C., Cotorruello C. et al. Senescent erythrocytes: modification of rheologic properties, antigenic expression and interaction with monocytes // *Medicina B. Aires.* – 1999. – Vol. 59, № 1. – P. 33–37.

680. Rahbar S., Blumenfeld O., Ranney H. Studies of unusual hemoglobin in patients with diabetes mellitus // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1969. – Vol. 36, № 5. – P. 838–843.

681. Ramakrishnan S., Schmid-Schonbein H. Effect of local anesthetics on red blood cell deformability // *Front. Med. Biol. Eng.* – 1999. – Vol. 9, № 4. – P. 331–336.

682. Reeves R., Morin R. Pressure increases oxygen affinity of whole blood and erythrocytes suspensions // *J. Appl. Physiol.* – 1986. – Vol. 61, № 2. – P. 486–494.

683. Refsum Y., Jpdahl H., Leraand S. Effect of extreme metabolic acidosis on oxygen delivery capacity of the blood – an *in vitro* investigation of changes in the oxyhemoglobin dissociation curve in

blood with pH values of approximately 6.30 // Crit. Care Med.–1997.– Vol.25, № 9.–P. 1497–1501.

684. Reinhart W., Chabanel A., Ya Yo M. et al. Evaluation of a filter aspiration technique to determine membrane deformability // J. Lab. Clin. Med. –1987. – Vol. 110, № 4. –P.483–494.

685. Remy B., Deby-Dupont G., Lamy M. Red cell substitutes: fluocarbon emulsions and hemoglobin solutions // Brit. Med. Bull. – 1999. – Vol. 55. – P. 277–298.

686. Rentsch R.L. et al. Effects of darbepoetin injections on erythrocyte membrane transport protein expressions in humans // J. Appl. Physiol. – 2006. – Vol. 101, № 1. – P. 164–168.

687. Richards M.P. Redox reactions of myoglobin // Antioxid. Redox. Signal. – 2013. – Vol.18, № 17. – P. 2342–2351.

688. Richards R., Roberts T., McGregor N. et al. The role of erythrocytes in the inactivation of free radicals // Med. Hypotheses. – 1998. – Vol. 50, № 5. –P.363–367.

689. Riess J., Flaim S., Klein D., Weers J. The relative physico-chemical and biological attributes of perflubron emulsions // Физиологическая активность фторсодержащих соединений. – Пуццино. – 1995. – С. 73–90.

690. Rifkind J.M. et al. Nitrite-induced improved blood circulation associated with an increase in a pool of RBC–NO with no bioactivity // Adv. Exp. Med. Biol. – 2009. – Vol. 645. – P. 27–34.

691. Riva N., Lip G.Y. Nebivolol for the treatment of heart failure // Expert. Opin. Investig. Drugs. – 2011. – Vol. 20, № 12. – P. 1733–1746.

692. Rude R., Tumas J., Gunst M. et al. Effects of ortho-iodo sodium benzoate on acute myocardial ischemia, hemodynamic function and infarct size after coronary artery occlusion in dogs // Am. J. Cardiol. – 1983. – Vol. 51, № 9. – P. 1422–1427.

693. Sabbah H., Sharov V., Lesch M., Goldstein S. Progression of heart failure: a role for interstitial fibrosis. // Mol. Cell. Biochem. – 1995. – Vol. 147, № 1-2.–P.29–34.

694. Sakai H., Cabrales P., Tsai A.G., Tsuchida E., Intaglietta M. Oxygen release from low and normal *p*50 Hb vesicles in transiently occluded arterioles of the hamster window model // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2005. – Vol. 288. – H2897–H2903.

695. Sakinis A., Jungersten L., Wennmalm A. An 18oxygen inhalation method for determination of total body formation of nitric oxide in humans // Clin. Physiol. – 1999. – Vol. 19, №6. – P. 504–509.

696. Saldanna C., Sargento L., Monteiro J. et al. Impairment of the erythrocyte membrane fluidity in survivors of acute myocardial infarction. A perspective study. // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 1999. – Vol. 20, № 2. – P. 111–116.

697. Samaja M., Rovida E., Motterlini R. et al. The relationship between the blood oxygen transport and the human red cell aging process // Adv. Exp. Med. Biol. – 1991. – Vol. 307. – P. 115–123.

698. Samaja M., Crespi N., Guazzi M., Vandegriff K.D. Oxygen transport in blood at high altitude: role of the hemoglobin–oxygen affinity and impact of the phenomena related to hemoglobin allosterism and red cell function // Eur. J. Appl. Physiol. – 2003. – Vol. 90. – P. 351–359.

699. Samaja M., Veicsteinas A., Cerretelli P. Oxygen affinity of blood in altitude Sherpas // J. Appl. Physiol. Respir. Environ. Exercise Physiol. – 1979. – Vol. 47, № 2. – P. 337–341.

700. Samaja M., Winslow R. The separate effects of H⁺ and 2,3-DPG on the oxygen equilibrium curve of human blood // Brit. J. Haematol. – 1979. – Vol. 41, № 3. – P. 373–381.

701. Sarraf-Yazdi S., Sheng H., Grocott H.P. et al. Effects of RSR13, a synthetic allosteric modifier of hemoglobin, alone and in combination with dizocilpine, on outcome from transient focal cerebral ischemia in the rat // Brain. Res. – 1999. – Vol. 826, №2. – P.172–180.

702. Schauf S., Lang U., Stute P. et al. Reduced red blood cell deformability, an indicator for high fetal or maternal risk, is found in preeclampsia and IUGR // Hypertens. Pregnancy. – 2002. – Vol. 21, № 2. – P.147–160.

703. Schechter A.N., Gladwin M.T. Hemoglobin and the paracrine and endocrine functions of nitric oxide // New Engl. J. Med. – 2003. – Vol. 349, № 4. – P. 402–405.

704. Scheid P., Meyer M. Mixing technique for study of oxyhemoglobin equilibrium: a critical evaluation // J. Appl. Physiol. – 1978. – Vol. 45, № 5. – P.616–622.

705. Schmid-Schonbein H. Blood rheology and oxygen transport to tissues // *Adv. Physiol. Sci.* – 1982. – Vol. 25. – P. 279–289.

706. Schmidt W., Böning D., Braumann K.M. Red cell age effects on metabolism and oxygen affinity in humans // *Respir. Physiol.* – 1987. – Vol. 68, № 2. – P. 215–225.

707. Schneditz D., Ribitsch V., Kenner T. Rheological discrimination between native, rigid and aggregated red blood cells in oscillatory flow // *Biorheology.* – 1985. – Vol. 22, № 3. – P. 209–219.

708. Schobersberger W. et al. Austrian Moderate Altitude Study (AMAS 2000): erythropoietic activity and Hb-O₂ affinity during a 3-week hiking holiday at moderate altitude in persons with metabolic syndrome // *High Alt. Med. Biol.* – 2005. – Vol. 6, № 2. – P. 167–177.

709. Schoenberg M.H., Beger H.G. Sauerstoffradikale und postischämische Organschaden – Pathophysiologie, klinische Relevanz und Therapie // *Zentralbl. Chir.* – 1995. – Vol. 120, № 3. – P. 174–185.

710. Schrumpf J., Sheps D., Wolfson S. et al. Altered hemoglobin oxygen affinity with long term propranolol therapy in patients with coronary artery disease // *Am. J. Cardiol.* – 1977. – Vol. 40, № 1. – P. 76–82.

711. Schrumpf J., Sheps D., Wolfson S. et al. Effects of propranolol on hemoglobin–oxygen affinity in the anginal syndrome // *Am. J. Cardiol.* – 1974. – Vol. 33, № 1. – P. 170.

712. Schumacker P.T., Sugget A.J., Wagner P.D. et al. Role of hemoglobin *p*50 in O₂ transport during normoxic and hypoxic exercise in the dog // *J. Appl. Physiol.* – 1985. – Vol. 59, № 3. – P. 747–757.

713. Schwartz C., Kilgore K., Georges A. et al. RSR13 improves myocardial functional recovery following cardiopulmonary bypass-induced ischemia // *Circulation.* – 1998. – Vol. 17, № 1. – P. 612.

714. Severinghaus J. Blood gas calculator // *J. Appl. Physiol.* – 1966. – Vol. 21. – P. 1108.

715. Shand B. Haemorheological effects of losartan and enalapril in patients with renal parenchymal disease and hypertension // *J. Hum. Hypertens.* – 2000. – Vol. 14. – P. 305–309.

716. Shappell S., Lenfant J. Adaptive, genetic and iatrogenic alterations of the hemoglobin-dissociation curve // *Anesthesiology*. – 1972. – Vol. 37, № 2. – P. 127–139.

717. Shen X., Dong Q., Chen J. et al. Erythrocyte deformation in simulated weightless human and rabbits // *J. Gravit. Physiol.* – 1997. – Vol. 4, № 3. – P.61–65.

718. Sherman J. Synthetic zeolites and other microporous oxide molecular sieves // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1999. – Vol. 96. – P. 3471–3478.

719. Shimizu K., Bucci E. Allosteric effectors of hemoglobin-interaction of human adult and fetal hemoglobins with polycarboxylic acids // *Biochemistry*. – 1974. – Vol. 13. – P. 809–814.

720. Shirasawa T., Izumizaki M., Suzuki Y. et al. Oxygen affinity of hemoglobin regulates O₂ consumption, metabolism, and physical activity // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278, № 7. – P. 5035–5043.

721. Shoemaker S., Gerber M., Evans G. et al. Initial clinical experience with a rationally designed, genetically engineered recombinant human hemoglobin // *Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol.* – 1994. – Vol. 22. – P. 457–465.

722. Siggaard-Andersen O., Wimberley D., Fogh-Andersen N. et al. Measured and derived quantities with modern pH and blood gas equipment: Calculation algorithms with 54 equations // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 1988. – Vol. 48, № 189. – P.7–15.

723. Simanionok J.P. Non-ischemic hypoxia of the arterial wall is a primary cause of atherosclerosis // *Med. Hypotheses*. – 1996. – Vol.46, №2. – P.155–161.

724. Slonim A., Cristal N. Cardiovascular diseases, blood rheology and dihydropyridine calcium antagonists // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 1992. – Vol. 19, № 3. – P. 96–98.

725. Smiler B. Myocardial protection and oxyhemoglobin dissociation curve // *Anesthesiology*. – 2000. – Vol. 93, № 6. – P. 1531.

726. Smith J. Erythrocyte deformability // Ed. Agar N., Board P. "Red blood cells of domestic mammals". – Amsterdam. – 1983. – P. 55–112.

727. Sneetr M., Casely J. 2,3-DPG and ATP dissociate erythrocytes membrane // *J. Biol. Chem.* – 1980. – Vol. 225, № 26. – P. 9925–9960.

728. Snyder G.K. Erythrocyte evaluation: the significance of the Fahraeus–Lindqvist phenomenon // *Respir. Physiol.* – 1973. – Vol. 19, № 3. – P. 271–278.

729. Sonveaux P., Lobysheva I.I., Feron O., McMahon T.J. Transport and peripheral bioactivities of nitric oxide carried by red blood cell hemoglobin: role in oxygen delivery // *Physiology*. – 2007. – Vol. 22. – P. 97–112.

730. Sorette M.P., Lavenant M.G., Clark M.R. Ektacytometric measurement of sickle cell deformability as a continuous function of oxygen tension // *Blood*. – 1987. – Vol. 69, № 1. – P. 316–323.

731. Soubasi V. et al. Use of erythropoietin and its effects on blood lactate and 2,3-diphosphoglycerate in premature neonates // *Biol. Neonate*. – 2000. – Vol. 78, № 4. – P. 281–287.

732. Sowade O. et al. Evaluation of oxygen availability with oxygen status algorithm in patients undergoing open heart surgery treated with erythropoietin beta // *J. Lab. Clin. Med.* – 1997. – Vol. 129, № 1. – P. 97–105.

733. Sowemimo-Coker S., Kovacs I., Kirby J., Turner P. Effects of verapamil on calcium-induced rigidity and on filterability of red blood cells from healthy volunteers and patients with progressive systemic sclerosis // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 1985. – Vol. 19, № 6. – P. 731–737.

734. Spodaryk K. The influence of low-power laser energy on red blood cell metabolism and deformability // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2001. – Vol. 25, № 3-4. – P. 145–151.

735. Sprague R.S., Ellsworth M.I., Stephenson A.H. et al. The red blood cell link to NO and local control of the pulmonary circulation // *American Journal of Physiology*. – 1996. – Vol. 40, № 6. – P. H2717–H2722.

736. Sraer J. et al. Prostaglandin synthesis by isolated rat renal glomeruli // *Mol. Cell Endocrinol.* – 1979. – Vol. 16, № 1. – P. 29–37.

737. Stamler J., Jia L., Eu J. et al. Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient // *Science*. – 1997. – Vol. 276. – P. 2034–2037.

738. Stamler J.S. S-Nitrosothiols in the blood. Roles, amounts, and methods of analysis // *Circ. Rec.* – 2004. – № 94. – P. 414–417.

739. Stamler J.S., Jia L., Eu J.P., McMahon T.J., Demchenko I.T., Bonaventura J., Gernert K., Piantadosi C.A. Blood flow regulation by

S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient // *Science*. – 1997. – Vol. 276. – P. 2034–2037.

740. Standl E., Kolb H. The effect of fructose infusion on the oxygen transport system of human blood // *Eur. J. Clin. Invest.* – 1976. – Vol. 6, № 2. – P. 121–125.

741. Starzyk D., Korbut R., Gryglewski R.J. Effects of nitric oxide and prostacyclin on deformability and aggregability of red blood cells of rats *ex vivo* and *in vitro* // *J. Physiol. and Pharmacol.* – 1999. – Vol. 50, № 4. – P. 629–637.

742. Stein J.C., Ellsworth M.L. Microvascular oxygen transport: Impact of a left-shifted dissociation curve // *Am. J. Physiol.* – 1992. – Vol. 262, № 2 Pt. 2. – P. H517–H522.

743. Stein J., Ellsworth M. Capillary oxygen transport during severe hypoxia: role of hemoglobin oxygen affinity // *J. Appl. Physiol.* – 1993. – Vol. 75. – № 4. – P. 1601–1607.

744. Stepuro I., Chaikovskaya N., Piletskaya T., Solodunov A. Glutathione oxidation under the action of sodium nitrite on hemoglobin // *Pol. J. Pharmacol.* – 1994. – Vol. 46. – P. 601–607.

745. Stepuro T.L., Zinchuk V.V. Nitric oxide effect on the hemoglobin–oxygen affinity // *Journal Physiol. & Pharmacol.* – 2006. – Vol. 57, № 1. – P. 29–38.

746. Stoltz J.F., Donner M., Larcan A. Introduction to hemorheology: theoretical aspects and hyperviscosity syndromes // *Inter. Angio.* – 1987. – № 6. – P. 119–132.

747. Storz J.F., Moriyama H. Mechanisms of hemoglobin adaptation to high altitude hypoxia // *High. Alt. Med. Biol.* – 2008. – Vol. 9, № 2. – P. 148–157.

748. Stratonnikov A., Ermishova N., Loschenov V.B. Influence of red laser irradiation on hemoglobin oxygen saturation and blood volume in human skin *in vivo* // *Proc. SPIE.* – 2001. – Vol. 4257. – P. 57–64.

749. Stucker O., Vicant E., Villereal M. et al. Coronary response to large decreases of hemoglobin–O₂ affinity in isolated rat heart // *Am. J. Physiol.* – 1985. – Vol. 249, № 6. – P. 1224–1227.

750. Symeonidis A., Athanassiou G., Psiroyannis A. et al. Impairment of erythrocyte viscoelasticity is correlated with levels of glycosylated hemoglobin in diabetic patients // *Clin. Lab. Haematol.* – 2001. – Vol. 23, № 2. – P. 103–109.

751. Taki J., Masuda Y., Hayashi F., Fukuda Y. Increased cardiovascular and metabolic tolerance to acute hypoxia in the rat with increased hemoglobin-O(2) affinity induced by Na-cyanate treatment // *Jpn. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 49, № 3. – P. 257–265.

752. Tanaka N., Yamakawa M., Yamashita I. Characterization of transcription of genes involved in hairy root induction on pRi1724 core-T-DNA in two *Ajuga reptans* hairy root lines // *Plant. Sci.* – 1998. – Vol. 137, № 1. – P. 95–105.

753. Tang X., Takano H., Rizvi A. et al. Oxidant species trigger late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits // *Am. J. Physiol. Heart Circ.* – 2002. – Vol. 282, № 1. – P. 281–291.

754. Tannenbaum S. Nitrate and nitrite: origin in humans // *Science*. – 1994. – № 205. – P. 1333–1335.

755. Teisseire B.P., Soulers C.D., Teisseire L.J. et al. Induced low *p50* in anesthetized rats: blood gas, circulatory and metabolic adjustments // *Respir. Physiol.* – 1984. – Vol. 58, № 3. – P. 335–344.

756. Teitel P. Basic principles of the "Filterability test" (FT) and analysis of erythrocyte flow behavior // *Blood cells*. – 1977. – Vol. 3. – P. 55–70.

757. Terwilliger N. Functional adaptations on oxygen-transport proteins // *J. of Exp. Biol.* – 1998. – Vol. 201. – P. 1085–1098.

758. Tesoriere L. et al. Reaction of melatonin with haemoglobin-derived oxoferryl radicals and inhibition of the hydroperoxide-induced hemoglobin denaturation in red blood cells // *J. Pineal Res.* – 2001. – Vol. 31, № 2. – P. 114–119.

759. Thorp J., Waring W. Modification and distribution of lipids by ethyl chlorophenoxyisobutirate // *Nature*. – 1962. – Vol. 194. – P. 948–949.

760. Tillmann W., Levin C., Prindull G. et al. Rheological properties of young and aged human erythrocytes // *Klin. Wochenschr.* – 1980. – Vol. 58, № 1. – P. 569–574.

761. Todd J.C., Poulos N.D., Mollitt D.L. The effect of endotoxin on the neonatal erythrocyte // *J. Pediatr. Surg.* – 1993. – Vol. 28, № 3. – P. 334–337.

762. Torbati D., Wafapoor H., Peyman G.A. Hyperbaric oxygen tolerance in newborn mammals–hypothesis on mechanisms and outcome // *Free Radic. Biol. Med.* – 1993. – Vol. 14, № 6. – P. 695–703.

763. Tsai A., Vandegriff K., Intaglietta M. et al. Targeted O₂ delivery by low-p50 hemoglobin: a new basis for O₂ therapeutics // *Am. J. Heart Circ. Physiol.* – 2003. – Vol. 285, № 4. – P. 1411–1419.

764. Tsangaris H. et al. The effect of hyperoxaemia on erythropoietin secretion in anaemic patients // *Monaldi Arch. Chest Dis.* – 1999. – Vol. 54, № 2. – P.120–125.

765. Tsuda K., Kinoshita Y., Nishio I et al. Hyperinsulinemia is a determinant of membrane fluidity of erythrocytes in essential hypertension // *Am. J. Hypertens.* –2001. – Vol. 14, № 1. – P. 419–423.

766. Tsuda K., Tsuda S., Minatogawa Y. et al. Effects of calcium antagonists on membrane fluidity in hypertension – an electron spin resonance study // *Am. J. Hypertens.* – 1988. – Vol. 1, 3 (Pt1). – P. 283–286.

767. Turek Z., Kreuzer F., Ringnald E.M. Blood gases at several levels of oxygenation in rats with left-shifted blood dissociation curve // *Pflugers Arch.* – 1978. – Vol. 376, № 1. – P. 7–13.

768. Török B., Röth E., Pollák Z. Myocardial damages scavenged by antioxidant therapy in experimental heart infarct // *Cardiovascular Pharmacology'87.* – Budapest, 1987. – P. 357–369.

769. Urbanics R., Kovach A.G.B. Effect of emoramil on cerebrocortical microcirculation during hypoxia and on K⁺, pH, Po₂ changes during and after anoxia // *Adv. Exp. Med. and Biol.* –1989. – Vol. 248. – P. 479 – 487.

770. Vallance P., Patton S., Bhagat K., MfcAllister R., Radomski M., Moncada S., Malinski T. Direct measurement of nitric oxide in human beings // *Lancet.* – 1995. – № 345. – P. 153–154.

771. Valtis L., Baikie A. Influence of red cell thickness on the oxygen dissociation curve of blood // *Brit. J. Heamatol.* – 1955, № 1. – P. 146.

772. Van Hinsbergh V.W.M. The endothelium: vascular control of haemostasis // *Eur. J. of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* – 2001. – Vol. 95. – P. 198–201.

773. Vandegriff K., Rolfs R., Magde M., Winslow R. Hemoglobin-oxygen equilibrium curves measured during enzymatic oxygen consumption // *Ann. Biochem.* – 1998. – Vol. 256, № 1. –P.107–116.

774. Vanderplassche G., Borges M. NADH oxidase as a source of hydrogen peroxide (H₂O₂) in ischemic myocardium // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1988. – Vol. 20, № 5. – P. 65–65.

775. Vane J.B. The endothelium: maestro of the blood circulation // *Philos. Trans. R. Soc. Lond.* – 1994. – Vol. 343. – P. 225–246.
776. Van-Gelder J., Nair C., Dhall D. Erythrocyte aggregation and erythrocyte deformability modify the permeability of erythrocyte enriched fibrin network // *Thromb.Res.* – 1996. – Vol. 82, № 1. – P. 33–42.
777. Vargiu C., Belliardo S., Cravanzola C. et al. Oxygen regulation of rat hepatocyte iNOS gene expression // *Journal of Hepatology.* – 2000. – Vol. 32, № 4. – P.567–573.
778. Varnado C.L., Mollan T.L., Birukou I et al. Development of recombinant hemoglobin-based oxygen carrier // *Antioxid. Redox Signal.* – 2013. – Vol. 18, № 17. –P.2314–2328.
779. Vaya A., Lopez J., Contreras M. et al. Erythrocyte deformability in survivors of acute myocardial infarction measured by two different methodologies // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2002. – Vol. 27, № 1. –P.17–25.
780. Venitz J., Gerber M., Abraham L. Pharmacological effects of escalating IV doses of an allosteric hemoglobin modifier RSR13 in healthy volunteers // *Pharm. Res.* – 1996. – Vol. 13, № 9. –P.115.
781. Venitz J., Liard J., Hackman J. PK and PD of escalating, single IV doses of a synthetic allosteric hemoglobin (Hb) modifier, RSR 13, in patients with stable effort angina // *Clin. Pharmacol.Ther.* – 1999. – Vol. 65, № 2. –P.151.
782. Villela N.R., Cabrales P., Tsai A.G, Intaglietta M. Microcirculatory effects of changing blood hemoglobin oxygen affinity during hemorrhagic shock resuscitation in an experimental model // *Shock.* – 2008. Oct 23. [Epub ahead of print]
783. Villereal M.C., Ropars C., Hurel C. et al. Oxygen transport to tissue modified by entrapment of an allosteric effector of haemoglobin in erythrocytes // *Folia haematol.* – 1987. – Vol. 114, № 4. – P. 488–492.
784. Vokonas P., Cohn P., Klein M. et al. Haemoglobin affinity for oxygen in the anginal syndrome with normal coronary arteriograms // *Circulation.* – 1970. – Vol. 42, № 3. – P. 204–206.
785. Wagner K.F., Krumm R., Pohl U. Inhibition of EDRF formation impairs skeletal muscle oxygen pressure distribution and blood flow in rats // *J. Vasc. Res.* – 1992. – Vol.29. – P. 223.

786. Wagner P.D., Wagner H.E., Groves B.M., Cymerman A., Houston C.S. Hemoglobin p50 during a simulated ascent of Mt. Everest, Operation Everest II // High. Alt. Med. Biol. – 2007. – Vol. 8, № 1. – P. 32–42.

787. Wahr J., Cerber M., Venitz J., Balige N. Allosteric modification of oxygen delivery by hemoglobin // Anesthesia Analgesia. – 2001. – Vol. 92, № 3. – P. 615–620.

788. Wainwright M., Sheng H., Sato Y. et al. Pharmacological correction of hypothermic p50 shift does not alter outcome from focal cerebral ischemia in rats // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2002. – Vol. 282, № 5. – P. 1863–1870.

789. Wang Q., Sloquist P. Effects of the insurmountable angiotensin ATI receptor antagonist losartan on ischemia/reperfusion injury in rat hearts // Eur. J. Pharmacol. – 1999. – Vol. 380, № 1. – P. 13–21.

790. Wang X., Wu Z., Song G. et al. Effects of oxidative damage of membrane protein thiol groups on erythrocyte membrane viscoelasticities // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 1999. – Vol. № 2. – P. 137–146.

791. Wang X.Q., Vaziri N.D. Erythropoietin depresses nitric oxide synthase expression by human endothelial cells // Hypertension. – 1999. – Vol. 33, № 3. – P. 894–899.

792. Warltier D., Pagel P., Kersten J. Approach to the prevention of perioperative myocardial ischemia // Anesthesiology. – 2000. – Vol. 92, № 1. – P. 253–260.

793. Wasilewski J., Turczynsky B., Slowinska L. et al. Haemorrhological factors and myocardial reperfusion in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary coronary intervention // Kardiolog. Pol. – 2007. – Vol. 65, № 7. – P. 778–785.

794. Watanabe H., Kobayashi A., Yamamoto T. et al. Alterations of human erythrocyte membrane fluidity by oxygen-derived free radicals and calcium // Free Radic. Biol. Med. – 1990. – Vol. 8, № 6. – P. 507–514.

795. Watanabe T., Takeda T., Omiya S. et al. Reduction in hemoglobin-oxygen affinity results in the improvement of exercise capacity in mice with chronic heart failure // J. Am. Coll. Cardiol. – 2008. – Vol. 52, № 9. – P. 779–786.

796. Watkins G., Johnson T.H., Wenk M. , Lowett E. Phenox-ybenzamine– a mediator of blood oxygen affinity // J. of Trauma. – 1976. – Vol. 16, № 7. – P. 566–572.

797. Waugh R.E. Effects of 2,3-diphosphoglycerate on mechanical properties of erythrocyte membrane // Blood. – 1986. – Vol. 68, № 1. – P. 231–238.

798. Weber K. Extracellular matrix remodeling in heart failure: a role for de novo angiotensin II generation // Circulation. – 1997. – Vol. 96, № 11. – P. 4065–4082.

799. Weber R.E. High–altitude adaptations in vertebrate hemoglobins // Respir. Physiol. Neurobiol. – 2007. – Vol. 158, № 2–3. – P. 132–142.

800. Weber R.E., Fago A. Functional adaptation and its molecular basis in vertebrate hemoglobins, neuroglobins and cytoglobins // Respir. Physiol. Neurobiol. – 2004. – Vol. 144, № 2–3. – P. 141–159.

801. Weglicki W., Mak I. Antioxidant drug mechanisms of transition, metal binding and vasodilatation // Mol. Cell. Biochem. – 1992. – Vol. 118, № 2. – P.105–111.

802. Weiss R., Mejia M., Kass D. et al. Preservation of canine myocardial high–energy phosphates during low-flow ischemia with modification of hemoglobin-oxygen affinity // J.Clin. Invest. – 1999. – Vol. 103, № 5. – P. 739–746.

803. Wen Z., Xie L., Yan Z. et al. Effect of ⁶⁰Co irradiation on characteristics of hemorheology in rabbits // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2001. – Vol. 25, № 2. – P.75–81.

804. Werns S., Simpson P., Nickelson J. et al. Sustained limitation by superoxide dismutase of canine myocardial injury due to regional ischemia followed by reperfusion // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 1988. – Vol. 11. – P. 36–44.

805. Wettstein R., Tsai A.G., Winslow R.M., Intaglietta M. Resuscitation with polyethylene glycol–modified human hemoglobin improves microcirculatory blood flow and tissue oxygenation after hemorrhagic shock in awake hamsters // Crit. Care. Med. – 2003. – Vol. 31, № 6. – P. 1824–1830.

806. Whorton A.R., Simonds D.B., Piantadosi C.A. Regulation of nitric oxide synthesis by oxygen in vascular endothelial cells // Am. J. Physiol. – 1997. – Vol. 16. – P.L1161–1166.

807. Wilkerson D.P. et al. Influence of recombinant human erythropoietin treatment on pulmonary O₂ uptake kinetics during exercise in humans // J. Physiol. – 2005. – Vol. 568, № 2. – P. 639–652.

808. William C.F. Phenotypic heterogeneity of the endothelium // Circ. Res. – 2007. – Vol. 100. – P. 158–173.

809. Williams A.R., Morris D.R. The internal viscosity of the human erythrocyte may determine its lifespan in vivo // Scand. J. Haematol. – 1980. – Vol. 24, № 1. – P. 57–62.

810. Winslow R.M. The role of hemoglobin oxygen affinity in oxygen transport at high altitude // Respir. Physiol. Neurobiol. – 2007. – Vol. 158, № 2–3. – P. 121–127.

811. Woods J.A., Storey C.J., Babcock E.E., Malloy C.R. 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, № 3. – P. 359–363.

812. Woodson R.D., Wranne B., Detter J.C. Effect of increased blood oxygen affinity on work performance of rats // J. Clin. Invest. – 1973. – Vol. 52, № 11. – P. 2717–2724.

813. Woodson R., Auerbach S. Effect of increased oxygen affinity and anemia on cardiac output and its distribution // J. Appl. Physiol. – 1982. – Vol. 52. – P. 1299–1306.

814. Woodson R. Physiological significance of oxygen dissociation curve shifts // Crit. Care Med. – 1979. – Vol. 7, № 9. – P. 368–373.

815. Wyman J. Allosteric effects of hemoglobin // Gold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. – 1963. – Vol. 28. – P. 483–489.

816. Xu X.P., Pollock J.S., Tanner M.A. et al. Hypoxia activates nitric oxide synthase and stimulates nitric oxide production in porcine coronary resistance arteriolar endothelial cells // Cardiovasc. Res. – 1995. – Vol. 30, № 6. – P. 841–847.

817. Xue D., Lu J., Wang K. The bidirectional effect of vanadyl ion on the oxygen affinity of human hemoglobin // J. Inorganic Biochem. – 1998. – Vol. 71, № 1. – P. 79–85.

818. Yaakobi T., Ben-Haim S., Oron O. Long-term effect of low irradiation on infarction and reperfusion injury in the rat hearts // Eur. Heart J. – 2000. – Vol. 21. – P. 40.

819. Yailali Y.T., Susam I., Demir E. et al. Increased red blood cell deformability and decreased aggregation as potential adaptive

mechanisms in the slow coronary flow phenomenon // *Coron. Artery Dis.* – 2013. – Vol. 24, № 1. – P.11–15.

820. Yamaguchi K., Asano K., Takasugi T. et al. Modulation of hypoxic pulmonary vasoconstriction by antioxidant enzymes in red blood cells // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* – 1996. – Vol. 153, № 1. – P. 211–217.

821. Yeh L.H., Alayash A.I. Redox side reactions of haemoglobin and cell signalling mechanisms // *J. Intern. Med.* – 2003. – Vol. 253, № 5. – P. 518–526.

822. Yerer M., Yapislar H., Yalcin O. et al. The protective effect of melatonin on lipid peroxidation and deformability of red blood cells in experimental sepsis in rats // 11th International Congress on Biorheology and 4th International Conference on Clinical Hemorheology. Antalya, Turkey. – 2002. – P. 2–29.

823. Yerer M.B., Aydoğan S. The importance of circadian rhythm alterations in erythrocyte deformability // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2006. – Vol. 35, № 1–2. – P. 143–147.

824. Yesilkaya F., Ertug Z., Yegin A. et al. Deformability and oxidant stress in red blood cells under the influence of halothane and isoflurane anesthesia // *Gen. Pharmacol.* – 1998. – Vol. 31, № 1. – P. 33–36.

825. Yonetani T., Park S., Tsuneshige A. et al. Global Allosteric Model of Hemoglobin // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277, № 37. – P. 34508–34520.

826. Yonetani T., Tsuneshige A., Zhou Y., Chen X. Electron paramagnetic resonance and oxygen binding studies of alpha-Nitrosyl hemoglobin. A novel oxygen carrier having no-assisted allosteric functions // *J. Biol. Chem.* – 1998. – Vol. 273. – P. 20323–20333.

827. Youssef A., Safo M., Danso-Danquah R. et al. Synthesis and X-ray studies of chiral allosteric modifiers of hemoglobin // *J. Med. Chem.* – 2002. – Vol. 45, № 6. – P.1184–1195.

828. Zhang H., Schmeisser A., Garlisch C. et al. Angiotensin II-induced superoxide anion generation in human vascular endothelial cells : Role of membrane-bound NADH/NADPH-oxidases // *Cardiovasc. Res.* – 1999. – Vol. 44, № 1. – P.215–222.

829. Zhang H., Manning L., Falcone J. et al. Human erythrocyte membrane Band 3 protein influences hemoglobin cooperativity // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278, № 41. – P. 39565–39571.

830. Zheng Y., Nguyen J., Wei Y., Sun Y. Recent advances in microfluidic techniques for single-cell biophysical characterization // *Lab. Chip.* – 2013. – Vol. 13, № 13. – P.2464–2483.

831. Zhu P., Zaugg C., Hornstein P. et al. Bradykinin-dependent cardioprotective effects of losartan against ischemia and reperfusion in rat hearts // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 1999. – Vol. 33, № 5. – P.785–790.

832. 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.

833. Zinchuk V., Borisiuk V. The effect of NO synthase inhibition on blood oxygen-carrying function during hyperthermia in rats // *Respiration Physiology.* – 1998. – Vol. 113, № 1. – P.39–45.

834. Zinchuk V.V., Dorokhina L.V. Blood oxygen transport in rats under hypothermia combined with modification of the L-arginine-NO pathway // *Nitric. Oxide.* – 2002. – Vol. 6, № 1. – P. 29–34.

835. Zinchuk V.V., Pronko T.P., Lis M.A. Blood oxygen transport and endothelial dysfunction in patients with arterial hypertension // *Clinical Physiology & Nuclear Medicine.* – 2004. – Vol. 24. – P. 205–211.

Репозиторий ГРГМУ

Научное издание

Зинчук Виктор Владимирович
Гацура Сергей Владимирович
Глуткина Наталия Викторовна

**КОРРЕКЦИЯ
КИСЛОРОДТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ
КРОВИ ПРИ ПАТОЛОГИИ
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ**

Монография

Ответственный за выпуск С. Б. Вольф

Компьютерная верстка С. В. Петрушиной
Корректор Л. С. Засельская

Подписано в печать 28.11.2016.
Формат 60х84/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Таймс. Ризография.
Усл. печ. л. 18,14. Уч.-изд. л. 14,24. Тираж 50. экз. Заказ 212.

Издатель и полиграфическое исполнение
учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет»
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013.
Ул. Горького, 80, 230009, Гродно.