

ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический
университет им. К.Д. Ушинского»
Учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет»

**РОЛЬ МИКРОРЕОЛОГИИ И МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ
ПРИ РАЗНЫХ ВАРИАНТАХ ОБЕСПЕЧЕНИЯ
ОРГАНИЗМА КИСЛОРОДОМ**

Сборник материалов международного симпозиума

Ярославль – Гродно
2021

УДК 612.12; 579.61
ББК 52.64
Р 68

Печатается по решению редакционно-издательского совета ЯГПУ им. К. Д. Ушинского и рекомендовано к изданию редакционно-издательским советом учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет» (протокол № 3 от 03.03.2021 г.)

Проведение симпозиума осуществлялось в рамках международного научного проекта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Российского фонда фундаментальных исследований «БРФФИ–РФФИ-2020» (№ M20P-428 – БРФФИ) и (№ 20-515-00019- РФФИ)

Рецензенты: заведующий кафедрой патологической физиологии учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет» профессор, д.м.н. Н.Е. Максимович
заведующий кафедрой медицинской физики с курсом медицинской информатики ЯГМУ профессор, д.б.н. М.М. Фатеев

Р 68 Роль микрореологии и микроциркуляции при разных вариантах обеспечения организма кислородом : сборник материалов международного симпозиума / под науч. ред. А.В. Муравьева. – Ярославль : РИО ЯГПУ ; В.В. Зинчука. – Гродно, 2021. – 198 с.
ISBN 978-5-00089-467-5

Международный симпозиум состоялся в рамках ежегодной научно-практической конференции «Чтения Ушинского» ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского». Материалы симпозиума посвящены фундаментальным и клиническим проблемам транспорта кислорода в организме человека. В представленных материалах отражены разные аспекты обеспечения организма кислородом, включая анализ роли системного кровообращения, микроциркуляции и реологии крови, а также клеточные и молекулярные механизмы изменений микрореологии эритроцитов клеток крови. Существенный объем материала, представленного на симпозиум, составляют фундаментальных исследований и клинических исследований роли газовых медиаторов: оксида азота и сульфида водорода в обеспечении транспорта кислорода кровью. В докладах также представлены исследования микрореологии эритроцитов, выполненные, базе новых лазерных и цифровых технологий.

ISBN 978-5-00089-467-5

УДК 612.12; 579.61
ББК 52.64

© ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им.

К. Д. Ушинского», 2021

© Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет», 2021

© Авторы материалов, 2021

Общая информация

Место проведения симпозиума: интернет платформа Вебконференций «Мираполис»

Дата проведения симпозиума: 4 марта 2021 г.
Две сессии: с 10.00 до 13.00 – первая сессия и с 14.00 до 17.00 – вторая сессия

Формы докладов участников симпозиума: 1) *устные дистанционный доклады* (регламент: 15 мин выступление + 5 мин вопросы и ответы); 2) *устные стендовые дистанционные доклады* (регламент: 5 мин выступление, с использованием до 5-6 слайдов)

Способы интернет-коммуникации: **Вариант 1** – для **персонального** подключения со своего компьютера к интернет-платформе «Мираполис» докладчики получают по электронной почте на свой электронный адрес ссылку, по которой будет произведено соединение. До начала конференции необходимо связаться с организатором работы платформы «Мираполис» в ЯГПУ им. Ушинского **Осетровым Игорем Александровичем** (после этого сами докладчики или И.А. Осетров могут загрузить презентации) адрес Осетрова И.А. - igos.yar@yandex.ru;

Вариант 2 – для подключение группы докладчиков руководитель-организатор группы связывается со своего электронного адреса с Осетровым И.А. и получает ссылку для соединения с платформой «Мираполис» на общий компьютер и организует выступления участников конференции согласно списку выступлений, приведенного в разделе «Научная программа»

Требования к оборудованию для трансляции Вебконференции: персональные компьютеры с Microsoft Windows-7 и выше, а также смартфоны и планшеты

**Научная программа
4 марта 2021, Сессия 1 (10.00 – 13.00 ч.)**

Открытие конференции.

Вступительное слово:

Ректор ГрГМУ Елена Николаевна Кроткова

Ректор ЯГПУ им. К.Д. Ушинского Михаил Вадимович

Груздев

Проректор по научной работе ГрГМУ Сергей Борисович

Вольф

I. Устные доклады

Председатели сессии:

проф. Виктор Владимирович Зинчук, Гродно, Беларусь

проф. Алексей Васильевич Муравьев, Ярославль, Россия

- 1) Билецкая Елена Степановна, Зинчук В.В., Гуляй
И.Э.

Участие газотрансмиттеров (NO, H₂S) в механизмах действия озона на транспорт кислорода кровью в гипероксических условиях

Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь

- 2) Приезжев Александр Васильевич

Оптические методы для исследования микрореологических и биомеханических свойств крови в норме и патологии

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

- 3) Луговцов Андрей Егорович

Реология крови и микроциркуляция в норме и при патологии

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

- 4) Иоскевич Николай Николаевич, Засимович В.Н.

Современные представления о лечении нарушений кислородного гомеостаза при реперфузионно-

реоксигенационном синдроме в хирургии хронической ишемии нижних конечностей

Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь

5) Фираго Маргарита Эдуардовна, Зинчук В.В.

Вклад газотрансмиттеров в развитие окислительного стресса, вызванного введением липополисахарида

Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь

II. Фиксированные доклады

1. Глуткин Сергей Викторович, Гуляй И.Э., Зинчук В.В.

Кислородное обеспечение крови крыс при окислительном стрессе в условиях введения мелатонина и модуляторов содержания сероводорода

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

2. Балабанович Татьяна Игоревна, Шишко В.И.

Роль гипоксией индуцируемого фактор-1α в прогнозировании рецидива фибрилляции предсердий

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

3. Засимович Владимир Николаевич, Зинчук В.В., Иоскевич Н.Н.

Применение корвитина для профилактики реперфузионных повреждений тканей при синдроме ишемии-реперфузии нижних конечностей

Брестская областная клиническая больница, Брест, Беларусь; Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

4. Глуткин Александр Викторович, Шелудько С.М., Сухоцкий А.С.

Характеристика репаративного процесса при ожоговой травме в условиях окислительного стресса

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

5. Ермолинский Петр Борисович

Зависимость микрореологических свойств эритроцитов от их возраста

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

6. Волкова Елена Леонидовна

Сравнительный анализ эффективности разных сигнальных каскадов на модели микрореологических ответов эритроцитов

ЯГПУ им. К.Д. Ушинского, Ярославль, Россия

7. Ковальчук-Болбатун Татьяна Викторовна, Смотрин С.М., Гуляй И.Э.

Прооксидантно-антиоксидантное состояние у беременных крыс с термическим ожогом кожи

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

4 марта 2021, Сессия 2 (14.00 – 17.00 ч.)

I. Устные доклады

Председатели сессии:

проф. Виктор Владимирович Зинчук, Гродно

проф. Алексей Васильевич Муравьев, Ярославль, Россия

1. Акулич Николай Васильевич, Зинчук В.В., Сяхович В.Э.

Оценка внутриклеточного содержания монооксида азота в эритроцитах и ретикулоцитах периферической крови

УЗ «Национальная антидопинговая лаборатория, Лесной, Беларусь; Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

2. Семенов Алексей Николаевич

Биофизические аспекты взаимодействия между фибриногеном и мембраной эритроцитов при их агрегации: оценка оптическими методами

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

3. Михайлов Павел Валентинович

Изменение показателей микроциркуляции и гемореологии на фоне возрастного снижения величины максимального потребления кислорода у лиц с разным уровнем двигательной активности

ЯГПУ им. К.Д. Ушинского, Ярославль

4. Булаева Светлана Владимировна

Исследование механизмов влияния газотрансмиттеров на микрореологию эритроцитов и тромбоцитов

ЯГПУ им. К.Д. Ушинского, Ярославль, Россия

5. Муравьев Алексей Васильевич

Анализ роли газотрансмиттеров в гемореологических механизмах транспорта кислорода кровью в различных условиях кислородного обеспечения организма

ЯГПУ им. К.Д. Ушинского, Ярославль, Россия

II. Фиксированные доклады

1. Мальшева Юлия Викторовна

Анализ макро - и микрореологических характеристик крови у лиц с разным аэробным потенциалом организма

ЯГПУ им. К.Д. Ушинского, Ярославль, Россия

2. Капков Арсений Алексеевич

Влияние эндотелиальных клеток на измерение микрореологических параметров эритроцитов in vitro

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

3. Глуткина Наталия Викторовна, Зинчук В.В.

Кислородзависимые процессы у пациентов с перенесенным инфарктом миокарда в сочетании с метаболическим синдромом

Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь; Гродненская университетская больница,
Гродно, Беларусь

4. Королев Петр Матвеевич

Проблемы кислородного обеспечения организма в патентах белорусских учёных

Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь

5. Ходосовский Михаил Николаевич, Зинчук В.В.

Участие эритропоэтина в коррекции NO-синтазной функции при ишемии-реперфузии печени

Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь

6. Доможилова Анна Александровна, Цаллагова Р.Б.

Оценка кожной микроциркуляции у спортсменов-единоборцев при выполнении дыхательной пробы

Национальный государственный университет физической культуры, спорта и здоровья имени П.Ф. Лесгафта, Санкт-Петербург, Россия

7. Остроумов Роман Сергеевич

Максимальное потребление кислорода и его доставка в ткани у лиц с разным уровнем аэробной работоспособности

Ярославское высшее военное училище противовоздушной обороны, Ярославль, Россия

16.50

Подведение итогов и закрытие заседания симпозиума

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Акулич Н.В., Зинчук В.В., Сяхович В.Э.</i> Оценка внутриклеточного содержания монооксида азота в эритроцитах и ретикулоцитах периферической крови.....	14
<i>Балабанович Т.И., Шишко В.И.</i> Роль гипоксией индуцируемого фактор-1 α в прогнозировании рецидива фибрилляции предсердий.....	19
<i>Билецкая Е.С., Зинчук В.В., Гуляй И.Э.</i> Участие газотрансммиттеров (NO, H ₂ S) в механизмах действия озона на транспорт кислорода кровью в гипероксических условиях.....	24
<i>Глуткина Н.В., Зинчук Вл.В.</i> Кислородзависимые процессы у пациентов с перенесенным инфарктом миокарда в сочетании с метаболическим синдромом.....	28
<i>Глуткин А.В., Шелудько С.М., Сёмуха А.Р., Сухоцкий А.С.</i> Характеристика репаративного процесса при ожоговой травме в условиях окислительного стресса.....	34
<i>Глуткина Н.В., Велисейчик А.А., Норик С.Ф.</i> Молекулярно-генетические особенности механизмов транспорта кислорода при саркоидозе Бека.....	38
<i>Глуткин С.В., Гуляй И.Э., Зинчук В.В.</i> Кислородное обеспечение крови крыс при окислительном стрессе в условиях введения мелатонина и модуляторов содержания сероводорода.....	41
<i>Засимович В.Н., Зинчук В.В., Иоскевич Н.Н.</i> Применение корвитина для профилактики реперфузионных повреждений тканей при синдроме ишемии-реперфузии нижних конечностей.....	46
<i>Иоскевич Н.Н., Засимович В.Н.</i> Современные представления о лечении нарушений кислородного гомеостаза при реперфузионно-реоксигенационном синдроме в хирургии хронической ишемии нижних конечностей.....	50
<i>Ковальчук-Болбатун Т.В., Смотрин С.М., Гуляй И.Э.</i> Прооксидантно-антиоксидантное состояние у беременных крыс с термическим ожогом кожи.....	55

<i>Королев П.М.</i> Проблемы кислородного обеспечения организма в патентах белорусских учёных.....	60
<i>Фираго М.Э.</i> Вклад газотрансммиттеров в развитие окислительного стресса, вызванного введением липополисахарида.....	65
<i>Ходосовский М.Н., Зинчук В.В.</i> Участие эритропоэтина в коррекции NO-синтазной функции при ишемии-реперфузии печени.....	69
<i>Волкова Е.Л., Муравьев А.В., Кислов Н.В., Комлев В.Л.</i> Сравнительный анализ эффективности разных сигнальных каскадов на модели микрореологических ответов эритроцитов.....	75
<i>Скоркина М.Ю., Шевченко Т.С., Зеленцова А.С., Тараненко А.С.</i> Влияние экзогенной АТФ на свойства клеточной поверхности гранулоцитов у больных острым лимфобластным лейкозом.....	83
<i>Муравьев А. В., Тихомирова И. А., Билецкая Е. С., Зинчук В. В., Остроумов Р. С., Михайлов П. В., Петроченко Е.П.</i> Анализ роли газотрансммиттеров в гемореологических механизмах транспорта кислорода кровью в различных условиях кислородного обеспечения организма.....	89
<i>Остроумов Р.С., Муравьев А.В., Булаева С.В., Михайлов П.В., Муравьев А.А.</i> Регистрация величины максимального потребления кислорода: сравнение двух методов и анализ, полученных результатов.....	97
<i>Замышляев А.В., Масина И.В., Емануйлова Н.В., Четвертакова Ж.Е.</i> Реологические свойства крови у больных системной склеродермией.....	102
<i>Емануйлова Н.В., Емануйлов В.И., Замышляев А.В., Масина И.В., Четвертакова Ж.Е.</i> Комплексные гемостаз-иологические и реологические нарушения у больных системной красной волчанкой.....	109
<i>Четвертакова Ж. Е., Масина И. В., Емануйлова Н. В., Замышляев А. В.</i> Сравнение эффективности прямого ингибитора ренина у пациентов с системной красной волчанкой и больных гипертонической болезнью.....	117

<i>Цаллагова Р.Б., Доможилова А.А.</i> Оценка кожной микроциркуляции у спортсменов-единоборцев при выполнении дыхательной пробы.....	123
<i>Луговцов А.Е., Незнанов А.И., Каданова И.М., Гурфинкель Ю.И., Шин С., Приезжев А.В.</i> Микрореология и микроциркуляция крови в норме и при патологии.....	127
<i>А.Н. Семенов, Е.А. Шишин, А.Е. Луговцов, П. Ермолинский, Б. Якимов, А. Муравьев, С. Шин, А.В. Приезжев</i> Биофизические аспекты взаимодействия фибриногена и мембраны эритроцитов при их агрегации: оценка с оптическими методами.....	130
<i>Ермолинский П.Б., Луговцов А.Е., Яя Ф., Ли К., Вагнер К., Приезжев А.В.</i> Зависимость микрореологических свойств крови от возраста эритроцитов.....	135
<i>Капков А.А., Семенов А.Н., Ермолинский П.Б., Луговцов А.Е., Приезжев А.В.</i> Применение лазерно-оптических и микрофлюидных методов для исследования взаимодействия клеток крови в среде с эндотелиальными клетками.....	138
<i>Приезжев А.В., Виндбергер У., Луговцов А.Е., Гурфинкель Ю.И., Никитин С.Ю., Шин С.</i> Оптические методы изучения микрореологических и биомеханических свойств крови в норме и патологии.....	143
<i>Масленникова Ю.Л.</i> Анализ специфических и неспецифических компонентов кислородного обеспечения тренированного и детренированного организма.....	148
<i>Булаева С.В., Волкова Е.Л., Михайлов П.В.</i> Исследование механизмов влияния газотрансмиттеров на микрореологию эритроцитов и тромбоцитов.....	153
<i>Сорогин А.Д.</i> Оценка изменения показателей жел и вертикального прыжка в годичном цикле подготовки у футболистов 13-14 лет.....	160
<i>Черногубова В.А, Муравьев А.В., Румянцев К.И.</i> Сравнительный анализ физического и функционального развития у подростков 11 и 15 летнего возраста.....	165
<i>Попова А.В., Семенова О.Н.</i> Изучение регионарного кровообращения при развитии выносливости у студентов.....	170

<i>Балина А.Ю., Семенова О.Н.</i> Теоретическое обоснование изучения регионарного кровотока методом доплерографии при развитии силовых способностей.....	173
<i>Попутьева А.А.</i> Особенности занятий гимнастикой с младшими школьниками.....	178
<i>Суслова А.П.</i> Применение комплекса упражнений на нестабильной опоре для развития равновесия.....	182
СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ.....	186

ЧАСТЬ 1.

**МАТЕРИАЛЫ МЕЖДУНАРОДНОГО
ИНТЕРНЕТ-СИМПОЗИУМА
«РОЛЬ МИКРОРЕОЛОГИИ
И МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ПРИ РАЗНЫХ
ВАРИАНТАХ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ОРГАНИЗМА
КИСЛОРОДОМ»**

Н.В. Акулич, В.В. Зинчук, В.Э. Сяхович¹

ОЦЕНКА ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО СОДЕРЖАНИЯ МОНООКСИДА АЗОТА В ЭРИТРОЦИТАХ И РЕТИКУЛОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Аннотация. В статье методом проточной цитофлуориметрии проведен анализ содержания монооксида азота в эритроцитах и ретикулоцитах периферической крови. Выявлены различия между эритроцитами и ретикулоцитами свежей крови в содержании NO.

Ключевые слова: монооксид азота, эритроциты, ретикулоциты, DAF-FM.

N.V. Akulich, V.V. Zinchuk, V.E. Syakhovich

ESTIMATION OF THE INTRACELLULAR CONTENT OF NITROGEN MONOXIDE IN ERYTHROCYTES AND RETHYTHROCYLES OF PERIPHERAL BLOOD

Abstract. The article analyzes the content of nitrogen monoxide in erythrocytes and reticulocytes of peripheral blood by the method of flow cytometry. Differences in the content of NO between erythrocytes and reticulocytes of fresh blood were found.

Key words: nitrogen monoxide, erythrocytes, reticulocytes, DAF-FM.

Введение. Монооксид азота – одна из ключевых сигнальных молекул, которая продуцируется различными типами клеток, являясь предметом изучения не только физиологии, но и патофизиологии [1]. Активность монооксида азота определяется скоростью его образования, локальной концентрацией, биологическими мишенями и их близостью к источнику NO [2]. Общеизвестно, что эритроциты периферической крови – терминально дифференцированные клетки, а их непосредственными предшественниками являются ретикулоциты. Ретикулоциты костного мозга, не покидая его пределов, в течение 70-120 часов продолжают синтезировать

гемоглобин. Затем они поступают в периферическое русло, где через 3 суток утрачивают базофильную сетчатую субстанцию и превращаются в зрелые клетки эритроидного ряда – эритроциты. Главными отличительными признаками ретикулоцитов периферической крови являются остатки РНК в цитоплазме и рецепторы трансферрина на цитоплазматической мембране, что отличает их от красных кровяных телец. Полный цикл эритропоэза у взрослого человека происходит в красном костном мозге, который отличается сложной структурной, включающей гранулопоэтические локусы, эритробластные островки и лимфоцитарные узелки. Важным фактором, определяющим пролиферацию и дифференцировку гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников, является напряжение кислорода (pO_2) [3]. По мнению [4], для покоящихся клеток ниш костного мозга характерно низкое давление кислорода, что подтверждается уровнем экспрессии HIF-1. В экспериментах *in vivo* на мышах показано, что, несмотря на очень высокую плотность сосудов, среднее значение pO_2 костного мозга составляет 22 мм рт. ст., что ниже чем нормальное значение pO_2 для венозной крови этого вида животных [4].

Основным гормоном, участвующим в регуляции эритропоэза является эритропоэтин (ЭПО), представляющий собой гликопротеин, состоящий из 166 аминокислот с N- и O-гликановыми фрагментами. Известно, что нормальный диапазон концентраций ЭПО в сыворотке относительно низок (4-26 мЕд/мл), и в физиологических условиях линейное снижение гематокрита приводит к экспоненциальному увеличению его концентрации в сыворотке. Основной точкой приложения ЭПО является ЭПО-рецептор клеток эритроцитарного ростка, через который эритропоэтин защищает клетки от апоптоза [1]. Эритропоэтин, циркулирующий в крови, оказывает влияние и на эритроциты и ретикулоциты периферической крови, модулируя средство гемоглобина к кислороду [2]. Поскольку, монооксид азота эритроцитов и ретикулоцитов является одним из модуляторов средства гемоглобина к кислороду, то целью исследования является сравнительная оценка содержания NO в эритроцитах и ретикулоцитах в свежееотобранной и хранящейся крови.

Методика

Забор крови производился у добровольцев мужского пола 41-45 лет, антикоагулянт – ЭДТА К₂. Аликвоты эритроцитов и ретикулоцитов для анализа получали путем внесения цельной крови в буферный раствор до конечной концентрации 5×10^6 клеток в 100 мкл. Из каждой аликвоты отбирали объем приготовленной суспензии эритроцитов и ретикулоцитов, и дважды отмывали буферным раствором для удаления плазмы. Количество клеток в исследуемом образце измеряли на автоматическом гематологическом анализаторе Sysmex XT2000i (Sysmex Corporation, Япония). В процессе отмывки эритроциты и ретикулоциты осаждали центрифугированием в течение 4-х минут при 400 g. Для хранения крови в анаэробных условиях при температуре 5°C использовался консервант глюглицир, пробы крови анализировались спустя 7 дней. Пробы крови окрашивались моноклональными антителами к CD 45 (панлейкоцитарный антиген), конъюгированным с хлорангидрид сульфородаминном, полиметином и диацетильным производным 4-амино-5-метиламино-2',7'-дифторфлуоресцеина (DAF-FM DA) (Molecular Probes) для выявления внутриклеточного NO. Определяли интенсивность флуоресценции DAF-FM на цитофлуориметре FACS ARIA (BD Bioscience, США). Для пробоподготовки использовали фосфатный буфер FACS Flow (BD Bioscience, США). Для статистического анализа использовались непараметрические методы. Изменения считались значимыми при $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение

Анализ внутриклеточного содержания монооксида азота был начат с корректного выделения клеток, являющихся предметом исследования. Для этого использовали последовательное «логическое гейтирование» с применением CD 45 и полиметина. Эритроциты и ретикулоциты не имели флуоресценции хлорангидрид сульфородамина. Дальний ход анализа представлен на рисунке 1. В верхней части рисунка содержится регион, обозначенный Leuk, который характеризуется наличием ДНК/РНК в цитоплазме (окрашиваются полиметином) клеток и содержанием панлейкоцитарного рецептора CD 45 на мембране, а эритроциты (RBC) и ретикулоциты (Ret) такого рецептора не имеют. В свою очередь ретикулоциты содержат остатки РНК и окрашиваются полиметином. Красные кровяные

тельца расположены на той области графика, где находятся клетки, не окрашенные ни одним из красителей. На нижней части рисунка представлен пример гистограммы распределения клеток с использованием логарифмической шкалы и статистические данные, касающиеся средней интенсивности (M) и среднеквадратического отклонения (SD) флуоресценции DAF-FM. Этот краситель позволяет оценивать только внутриклеточный NO, поскольку его флуоресцентная форма образуется под действием внутриклеточных эстераз.

Диаграмма распределения клеток периферической крови по внутриклеточному содержанию ДНК/РНК (ось Y) и наличию рецепторов лейкоцитов (ось X)

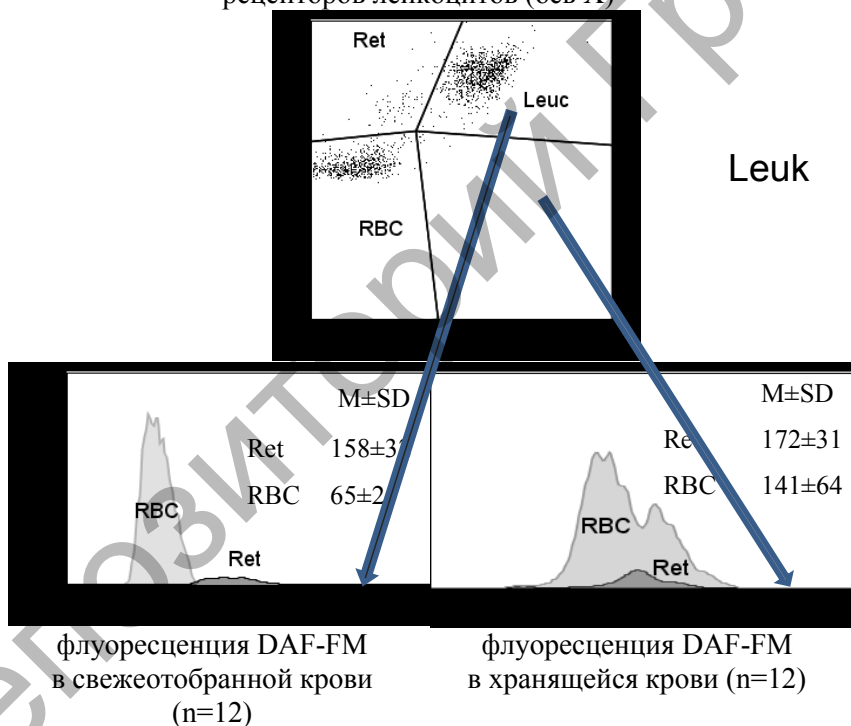


Рис. 1. Тактика гейтирования ретикулоцитов и эритроцитов

Абсолютное количество ретикулоцитов на протяжении всего периода наблюдения практически не изменялось, а количество ретикулоцитов с низким уровнем флуоресценции, которые являются

зрелыми формами эритроцитарных предшественников, нарастало. Уровень внутриклеточного монооксида азота в эритроцитах свежесобранной крови был значительно ниже и составил 65 ± 25 относительных единиц средней интенсивности флуоресценции (MFI).

При хранении крови различия в MFI DAF-FM между ретикулоцитами и эритроцитами практически нивелировались, а ее уровень составил 172 и 141 относительных единиц DAF-FM, соответственно. Обращает на себя внимание как значение среднеквадратического отклонения (SD) флуоресценции DAF-FM эритроцитов (64 единицы MFI), так и появление второго пика на гистограмме распределения эритроцитов. Это свидетельствует об увеличении гетерогенности эритроцитов по содержанию монооксида азота, причем доля клеток с высокими значениями этого параметра при хранении крови увеличивается, что и является причиной появления второго пика. Важно отметить, что в популяции ретикулоцитов таких изменений зарегистрировано не было. Отличия в содержании монооксида азота между эритроцитами и их предшественниками свежесобранной крови, на наш взгляд, связано с различным парциальным давлением кислорода в зоне эритропоза и периферическими венами, меньшим временем их пребывания в кровеносном русле после выхода из костного мозга, причем юные формы ретикулоцитов характеризуются меньшими значениями флуоресценции DAF-FM.

Таким образом, в ходе проведенного исследования проанализирован уровень монооксида азота в эритроцитах и ретикулоцитах периферической крови. Установлено, что между эритроцитами и ретикулоцитами свежей крови существуют различия в содержании NO, которые нивелируются по мере ее хранения.

Библиографический список

1. Зинчук В.В., Степура Т.Л.. Коррекция кислородтранспортной функции крови при патологии сердечно-сосудистой системы: монография / (под ред. В.В. Зинчука). – Гродно: ГрГМУ, 2016. – 176.
2. Зинчук В.В., Степура Т.Л.. NO-зависимые механизмы внутриэритроцитарной регуляции сродства гемоглобина к кислороду: монография / (под ред. В.В. Зинчука). – Гродно: ГрГМУ, 2016. – 176.

3. Chow D. C. et al. Modeling pO₂ Distributions in the Bone Marrow Hematopoietic Compartment. I. Krogh's Mode. Biophysical Journal. – 2001. – Vol. – 81. – P. 675-684.

4. Spencer J. A. et al. Direct measurement of local oxygen concentration in the bone marrow of live animals. Nature. – 2014. – Vol. 508. – P. 269-273.

УДК 616.12 – 008.313 – 06 – 074

Т.И. Балабанович, В.И. Шишко²

**РОЛЬ ГИПОКСИЕЙ ИНДУЦИРУЕМОГО ФАКТОР-1 α
В ПРОГНОЗИРОВАНИИ РЕЦИДИВА ФИБРИЛЛЯЦИИ
ПРЕДСЕРДИЙ**

Аннотация. Изучен диагностический потенциал HIF-1 α как прогностического биомаркера рецидива фибрилляции предсердий в однолетний период наблюдения после успешно выполненной электрической кардиоверсии у пациентов с персистирующей формой фибрилляции предсердий на фоне ишемической болезни сердца и/или артериальной гипертензии, ассоциированной с синдромом обструктивного апноэ/гипопноэ сна.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий, синдром обструктивного апноэ/гипопноэ сна, гипоксия, HIF-1 α , кардиоверсия.

T. I. Balabanovich, V. I. Shishko

THE ROLE OF HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR -1 α IN PREDICTION OF ATRIAL FIBRILLATION RECURRENCE

Abstract. In this article has been studied the prediction role of HIF-1 α in the development of atrial fibrillation (AF) recurrence after successful electrical cardioversion in one-year follow-up period in persistent AF patients with ischemic heart disease and/or arterial hypertension, suffering from obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome.

Key words: atrial fibrillation, obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome, hypoxia, HIF-1 α , cardioversion.

Введение

Отмечено, что гипоксия служит патогенетической основой разнообразных патологических процессов при различных заболеваниях, и в том числе при фибрилляции предсердий (ФП) и синдроме обструктивного апноэ/гипопноэ сна (СОАГС) [1]. Ключевую роль в системном ответе на гипоксию играет комплекс индуцируемого гипоксией фактора-1 (HIF-1) (от англ. HIF-1 – hypoxia inducible factor-1), который состоит из двух субъединиц – HIF-1 α и HIF-1 β [2]. Комплекс HIF-1 в условиях недостатка кислорода оказывает влияние на процессы ангиогенеза, эритропоэза, воспаления, вазомоторного контроля, энергетического метаболизма и апоптоза. Следует, однако, отметить, что активность и экспрессия HIF-1 α может определяться активными формами кислорода, цитокинами и другими сигнальными молекулами [1].

В ряде научных исследований описана ассоциация HIF-1 α с ФП [3]. В экспериментальной работе V.L. Thijssen и соавторов был установлен важный факт, согласно которому на фоне ФП в кардиомиоците животного обнаруживается высокая экспрессия HIF-1 α [4]. Это наблюдение дополняет исследование Н. Ogi и соавторов, согласно которому у пациентов с ФП были выявлены более высокие концентрации HIF-1 α , эндотелиального фактора роста сосудов (VEGF), матриксной металлопротеиназы-9 (ММР-9) в сравнении с пациентами без ФП. При этом авторы допускают, что фиброз миокарда при ФП опосредуется через гипоксию [5]. В работе Y. Xu и соавторов установлено, что пациенты с персистирующей/постоянной формой ФП имеют более выраженную экспрессию HIF-1 α в сравнении с пациентами с пароксизмальной формой ФП и пациентами с синусовым ритмом, что дало основание предполагать о возможной роли HIF-1 α в развитии структурного ремоделирования сердца, которое способствует как инициации, так и поддержанию ФП [6].

Особый интерес с клинической и патофизиологической точек зрения представляет собой сочетание ФП и СОАГС, которое встречается в диапазоне от 21% до 74%, и зачастую обуславливает более негативный прогноз для пациента с ФП [7]. Важным па-

тогенетическим фактором СОАГС является хроническая интермиттирующая гипоксия, на фоне которой происходит стабилизация HIF-1 α и усиление его активности. В условиях СОАГС дезадаптивный эффект увеличенных концентраций HIF-1 α может сопровождаться усугублением оксидативного стресса, воспаления и апоптоза. По мнению E. Belaidi и соавторов в формировании предсердного фиброза, ассоциированного с СОАГС, одну из возможных ролей играет сигнальный путь «активные формы кислорода – гипоксией индуцируемый фактор-1 α – эндотелин-1» [8].

Рассмотрение патогенеза ФП и СОАГС в их тесной взаимосвязи на основе анализа изменений HIF-1 α в сопоставлении с особенностями течения ФП является актуальным, так как позволит внести уточнения в представления о ведении пациентов с ФП и СОАГС.

Методика

Исследуемую выборку составили 46 пациентов с персистирующей формой ФП, страдающих ИБС и/или АГ. Средний возраст всех обследованных составил $57,2 \pm 6,4$ лет. Среди них было 35 (76,1%) мужчин и 11 (23,9%) женщин. Всем пациентам проводилось 24-х часовое полифункциональное кардиореспираторное мониторирование с использованием программно-аппаратного комплекса «Кардиотехника-04-3Р» (ИНКАРТ, Россия). Диагноз СОАГС ставился на основе показателя индекса апноэ/гипопноэ сна (ИАГ): при регистрации 5 и более эпизодов обструктивных респираторных событий за час исследования. С учетом наличия СОАГС были сформированы две клинические группы: I группа – пациенты без СОАГС; II группа – пациенты с СОАГС. Всем пациентам была выполнена эффективная электрическая кардиоверсия в условиях стационара. Период наблюдения за пациентами составил 1 год, по истечении которого оценивалась конечная точка в виде наличия рецидива ФП. Под рецидивом ФП принимался эпизод пароксизма ФП продолжительностью более 30 секунд верифицированный врачом по ЭКГ или в ходе холтеровского мониторирования ЭКГ. В зависимости от наличия рецидива ФП за период наблюдения были сформированы две клинические группы: группа R₀ – пациенты без рецидива ФП и группа R₁ – пациенты с рецидивом ФП.

Уровень HIF-1 α был определен в сыворотке венозной крови методом иммуноферментного анализа с помощью набора

Human HIF-1 α (ELISA Kit Cat. № EH0551) до кардиоверсии. Порядок приготовления проб, реагентов и схему опыта выполняли согласно инструкции изготовителя тест-систем (Wuhan Fine Biotech Corporation, Китай). Статистический анализ данных выполнялся с использованием программы STATISTICA 10.0 (StatSoft, Inc., США)

Результаты и их обсуждение

Среди обследованных пациентов у 76,1% был диагностирован СОАГС. Группа I (11 пациентов) и группа II (35 пациентов) были сопоставимы по возрасту ($58,2 \pm 7,3$ и $56,9 \pm 6,2$ соответственно; $p=0,43$), частоте сахарного диабета, АГ, ИБС, инсульта и хронической сердечной недостаточности. Пациенты группы II имели более высокие показатели индекса массы тела по сравнению с группой I ($33,6$ ($29,7$; $36,4$) и $28,7$ ($25,2$; $32,8$) соответственно; $p=0,019$). Давность существования ФП в группе I – на протяжении 4 месяцев (2 ; 5), в группе II – на протяжении 4 месяцев (3 ; 5) ($p=0,41$). Медиана показателя ИАГ в группе II была 30 (14 ; 43) эпизодов/ч, в группе I – 4 (4 ; 4) эпизодов/ч соответственно ($p=0,0001$). При определении в сыворотке уровня HIF-1 α пациенты группы II характеризовались достоверно более высокими значениями по сравнению с пациентами группы I ($8,74$ ($4,11$; $15,84$) нг/мл и $1,52$ ($0,96$; $3,71$) нг/мл соответственно; $p=0,002$). Установлена достоверная корреляционная положительная связь между уровнем HIF-1 α и величиной показателя ИАГ ($R=0,647$; $p=0,0001$).

По окончании периода наблюдения за пациентами у 29 (63%) из них развился рецидив ФП (группа R₁), а 17 (37%) пациентов удержали синусовый ритм (группа R₀). Показатель ИАГ был достоверно выше в группе R₁ по сравнению с группой R₀ (30 ($14,43$) и 11 ($4,15$) соответственно; $p=0,001$). У пациентов группы R₁ уровень HIF-1 α составил $9,34$ ($3,71$; $17,05$) нг/мл, а для пациентов группы R₀ – $3,83$ ($1,39$; $8,39$) нг/мл ($p=0,016$). При проведении однофакторного регрессионного анализа уровень HIF-1 α определен как предиктор, указывающий на вероятность рецидива ФП в однолетний период наблюдения после кардиоверсии (ОШ $1,69$; 95% ДИ ($1,065$ - $1,306$); $p=0,002$). Многофакторный логистический регрессионный анализ показал, что уровень HIF-1 α независимо связан с риском рецидива ФП (ОШ $1,17$; 95% ДИ ($1,046$ - $1,343$); $p=0,012$). Другими значимыми факторами модели оказались раз-

мер левого предсердия (ОШ 1,434; 95% ДИ (1,146–1,892); $p = 0,004$) и фракция выброса левого желудочка (ОШ 0,82; 95% ДИ (0,695–0,936); $p = 0,008$). Полученная математическая модель была оценена при помощи ROC-анализа. Площадь под ROC-кривой составила 0,897. Чувствительность модели составила 93,1%, специфичность составила 82,35%, точность составила 89,13%.

Таким образом, установлено, что уровень HIF-1 α может выступать предиктором риска рецидива ФП после успешной электрической кардиоверсии у пациентов с персистирующей формой ФП, страдающих СОАГС, доказана связь между концентрацией HIF-1 α и степенью тяжести СОАГС. Полученные результаты расширяют понимание патогенеза ФП у пациентов с СОАГС, позволяют более успешно проводить вторичную профилактику рецидива аритмии.

Библиографический список

1. Кубарко А. И. Системные, тканевые и клеточные реакции, предотвращающие и/или уменьшающие нарушения при недостатке кислорода // *Здравоохранение*. 2020. №11. С. 5-21.
2. Левина А.А. Регуляция гомеостаза кислорода. Фактор, индуцированный гипоксией (HIF) и его значение в гомеостазе кислорода // *Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского*. 2009. №4, Т. 88. С. 92-97.
3. Babapoor-Farrokhran S. Atrial fibrillation: the role of hypoxia-inducible factor-1-regulated cytokines // *Mol. Cell. Biochem*. 2021. Online ahead of print
4. Thijssen, V.L. Van der Velden H.M., Van Ankeren E.P. Analysis of altered gene expression during sustained atrial fibrillation in the goat // *Cardiovasc. Res*. 2002. Vol. 54. P. 427-437.
5. Ogi H. Is structural remodeling of fibrillated atria the consequence of tissue hypoxia? // *Circ. J*. 2010. Vol. 74, iss. 9. P. 1815-21.
6. Xu, Y., Sharma D., Du F. The role of Toll-like receptor 2 and hypoxia-induced transcription factor-1 α in the atrial structural remodeling of non-valvular atrial fibrillation // *Int. J. Cardiol*. 2013. Vol. 168. P. 2940-2941.
7. Linz D. Associations of Obstructive Sleep Apnea With Atrial Fibrillation and Continuous Positive Airway Pressure Treatment: A Review // *JAMA Cardiol*. 2018. Vol. 3, iss. 6. P. 532-540.

8. Belaidi E. Targeting the ROS-HIF-1-endothelin axis as a therapeutic approach for the treatment of obstructive sleep apnea-related cardiovascular complications // Pharmacol. Ther. 2016. Vol. 168. P. 1-11.

УДК [612.223.12: 615.834]: 612.127]-092.4

*Е.С. Билецкая, В.В. Зинчук, И.Э. Гуляй*³

**УЧАСТИЕ ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ (NO, H₂S)
В МЕХАНИЗМАХ ДЕЙСТВИЯ ОЗОНА НА ТРАНСПОРТ
КИСЛОРОДА КРОВЬЮ В ГИПЕРОКСИЧЕСКИХ
УСЛОВИЯХ**

Аннотация. Изучено влияние озона (6 мг/л) на процессы транспорта кислорода кровью в гипероксических условиях при использовании доноров газотрансмиттеров (нитроглицерин, гидросульфид натрия). Оксигенация усиливает влияние озона на кислородтранспортную функцию крови, газотрансмиттеры увеличивают данный эффект. Действие озона в гипероксических условиях приводит к росту NO₃⁻/NO₂⁻ и H₂S, нитроглицерин и гидросульфид натрия увеличивают эти показатели.

Ключевые слова: озон, газотрансмиттер, нитроглицерин, гидросульфид натрия, гипероксия.

E.S. Biletskaya, V.V. Zinchuk, I.E. Gulai

**PARTICIPATION OF GASEOUS TRANSMITTERS (NO, H₂S) IN
THE MECHANISMS OF OZONE ACTION ON THE BLOOD
OXYGEN TRANSPORT UNDER HYPEROXIC CONDITIONS**

Abstract. The effect of ozone (6 mg/l) on processes of blood oxygen transport under hyperoxic conditions using gaseous transmitters donors (nitroglycerin, sodium hydrosulfide) was studied. Oxygenation enhances the effect of ozone on the blood oxygen transport function, gaseous transmitters increase this effect. The action of ozone in hyperoxic conditions leads to an increase in NO₃⁻

/NO₂⁻ and H₂S, nitroglycerin and sodium hydrosulfide increase these parameters.

Key words: ozone, gaseous transmitter, nitroglycerin, sodium hydrosulfide, hyperoxia.

Введение

В настоящее время осуществляется поиск различных средств в борьбе с COVID-19, перспективным направлением в этой области является применение озона (O₃), который способствует доставке кислорода в ткани за счет активации пентозофосфатного пути, повышения содержания 2,3-дифосфоглицерата и стимуляции метаболизма кислорода в эритроцитах [1]. O₃ действует как эффективный регулирующий агент биологического окислительного стресса, вступая в реакцию с полиненасыщенными жирными кислотами, антиоксидантами, восстановленным глутатионом и альбумином, вызывает окисление этих соединений, что приводит к образованию H₂O₂ и продуктов окисления липидов [2].

Ранее нами было показано участие монооксида азота в формировании эффекта озона на кислородзависимые процессы, а именно, применение нитроглицерина приводило к усилению действия озона на кислородтранспортную функцию крови (КТФ), проявляющегося ростом PO₂, SO₂, p50, и увеличению концентрации газотрансмиттеров NO и H₂S [3]. Однако действие газотрансмиттеров в условиях гипероксии при применении озона недостаточно исследовано.

Цель данной работы – изучить участие газотрансмиттеров (NO, H₂S) в механизмах действия озона на транспорт кислорода кровью в гипероксических условиях.

Методика

На образцах крови, забранных от белых крыс-самцов массой 250-300 г (n=15), предварительно содержавшихся в стандартных условиях вивария, проводились опыты *in vitro*. Эксперименты были проведены в условиях оксигенации. Образцы крови (n=10) были разделены на 6 аликвот по 3 мл. В группах 2, 4, 5, 6 осуществляли обработку крови оксигенирующей газовой смесью (94,5% O₂; 5,5% CO₂) в термостатируемом сатураторе на протяжении 30 минут. К аликватам добавляли озонированный изото-

нический раствор хлорида натрия (с концентрацией O_3 6 мг/л) в объёме 1 мл (в 1-ю и 2-ю без озонирования) и 0,1 мл растворов, содержащих газотрансмиттеры (в 5-ю – нитроглицерин в конечной концентрации 0,05 ммоль/л (SchwarzPharma AG), 6-ю – гидросульфид натрия в конечной концентрации 0,38 ммоль/л (Sigma-Aldrich)) и изотонический раствор хлорида натрия (в 1-ю, 2-ю, 3-ю, 4-ю), после чего пробы перемешивались. Время инкубации составляло 60 мин. Изотонический раствор хлорида натрия барбатировался озono-кислородной смесью, которая создавалась озонотерапевтической установкой УОТА-60-01-Медозон (Россия) с возможностью контроля концентрации озона.

На газоанализаторе Stat Profile pHox plus L (США) при 37°C в крови определяли показатели КТФ крови. Активность свободно-радикальных процессов оценивали по содержанию первичных (диеновых конъюгатов – ДК) и промежуточных (малоновый диальдегид – МДА) продуктов перекисного окисления липидов. Активность каталазы определяли по способности пероксида водорода образовывать с солями молибдена стойко окрашенный комплекс при длине волны 410 нм. Концентрацию α -токоферола и ретинола определяли по методу S.L. Taylor. Продукцию эндогенного NO регистрировали по суммарному содержанию нитрат/нитритов (NO_3^-/NO_2^-) и уровень эндогенного сероводорода (H_2S) в плазме крови определяли спектрофотометрическим методом.

Все показатели проверяли на соответствие признака закону нормального распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. С учетом этого была использована непараметрическая статистика с применением программы “Statistica 10.0”. Результаты представлены как медиана (Me), 25-й и 75-й квартильный размах. Уровень статистической значимости принимали за $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

При добавлении озона в кровь, насыщенную оксигенированной газовой смесью, отмечается рост pO_2 на 144,27% ($p < 0,05$), SO_2 на 51,42% ($p < 0,05$), показателя СГК $p50_{\text{реал}}$ на 30,14% ($p < 0,05$). Также наблюдается увеличение $p50_{\text{станд}}$ на 22,66% ($p < 0,05$). Нитроглицерин усиливает эффект данного газа на КТФ крови в заданных условиях и приводит к тому, что pO_2 и SO_2 увеличиваются на 25,95 % ($p < 0,05$) и 23,17% ($p < 0,05$) соот-

ветственно, $p50_{\text{реал}}$ на 24,54% ($p < 0,05$). Гидросульфид натрия не оказывает подобного эффекта.

При добавлении озона и предварительной оксигенации крови наблюдается увеличение МДА, а показатели антиоксидантной защиты не изменяются в сравнении с группой озонирования без оксигенации. В группе с нитроглицерином содержание ДК, МДА растёт. Гидросульфид натрия и нитроглицерин приводят к увеличению активности каталазы по сравнению с аликвотой в которую вводили озон и предварительно оксигенировали. В условиях предварительной оксигенации под действием O_3 концентрация NO_3^-/NO_2^- и H_2S в плазме крови возрастает на 24,73% ($p < 0,05$) и на 38,11% ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с группой, в которую вводили только озон. Добавление нитроглицерина в условиях оксигенации приводит к увеличению NO_3^-/NO_2^- на 97,9% ($p < 0,05$) и H_2S на 59,99% ($p < 0,05$) в сравнении с группой озонирования с предварительной оксигенацией. Схожая динамика этих показателей наблюдается и в группе с гидросульфидом натрия.

Как следует из проведённых опытов отмечаются изменения КТФ крови в условиях оксигенации. Одним из важных факторов этого механизма является NO, который участвует в автономной внутриэритроцитарной системе регуляции SGK [4]. Взаимодействие газотрансмиттеров монооксида азота и сероводорода может иметь значение для модификации SGK через образование различных дериватов гемоглобина.

Таким образом предварительная оксигенация усиливает влияние озона на КТФ крови (рост pO_2 , SO_2 , $p50_{\text{реал}}$ и $p50_{\text{станд}}$). Добавление гидросульфида натрия и нитроглицерина увеличивает данный эффект, особенно последнего. Действие озона в гипероксических условиях приводит к росту концентрации NO_3^-/NO_2^- и H_2S , а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия существенно увеличивают эти показатели, что отражает участие данных газотрансмиттеров в модификации КТФ крови. Предварительная оксигенация существенно не меняет состояния прооксидантно-антиоксидантного баланса, а добавление нитроглицерина и сероводорода в данных условиях способствуют увеличению ДК, МДА и активности каталазы.

Исследование выполнено при поддержке гранта БРФФИ. Финансирование осуществляется в рамках международного

научного проекта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Российского фонда фундаментальных исследований «БРФФИ–РФФИ-2020» (№ М20Р-428).

Библиографический список

1. Potential Role of Oxygen-Ozone Therapy in Treatment of COVID-19 Pneumonia / Hernández A., Viñals M., Isidoro T., Vilás F. // Am J Case Rep. 2020. Aug 17, 21. Doi: 10.12659/AJCR.925849. (дата обращения: 14.02.2021).
2. The effects of systemic ozone application and hyperbaric oxygen therapy on knee osteoarthritis: an experimental study in rats / Yılmaz O., Bilge A., Erken H.Y., Kuru T. // Int. Orthop. 2021. V.45, № 2. P. 489-496.
3. Зинчук В.В. Эффект озона на кислородтранспортную функцию и прооксидантно-антиоксидантный баланс крови в условиях воздействия на по-генерирующую систему в опытах in vitro. / Зинчук В.В., Билецкая Е.С., Гуляй И.Э. // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. 2021. Т. 107, № 1. С. 16–27.
4. Зинчук В.В. Модификация оксидом азота средства гемоглобина к кислороду в различных условиях кислородного режима / Зинчук В.В., Степура Т.Л. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2013. Т.99, № 1. С. 111-119.

**УДК 616.127-005.4-005.8+[616-008.9+616.379-008.64]
085:[612.127.2: 612.123]**

Н.В. Глуткина, Вл.В. Зинчук⁴

КИСЛОРОДЗАВИСИМЫЕ ПРОЦЕССЫ У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРЕНЕСЕННЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА В СОЧЕТАНИИ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Аннотация. Анализируется роль кислородзависимых механизмов в развитии инфаркта миокарда с метаболическим синдромом. При данной патологии отмечается выраженная гиперлептинемия, степень которой коррелирует с показателями кислородтранспортной функции крови.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, метаболический синдром, оксид азота, антиоксидант.

N.V. Hlutkina, V.I.V. Zinchuk

OXYGEN-SUSTAINABLE PROCESSES IN INFECTED MYOCARDIUM IN CONNECTION WITH METABOLIC SYNDROME

Abstract. The role of oxygen-dependent mechanisms in the development of myocardial infarction with metabolic syndrome is analyzed. With this pathology, there is marked hyperleptinemia, the degree of which correlates with the oxygen transport function of the blood.

Key words: myocardial infarction, metabolic syndrome, nitric oxide, antioxidant.

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания являются ведущей причиной смертности в мире (в Российской Федерации в 2018 году смертность от болезней кровообращения - 537,6 случая на 100 тысяч населения) [1]. За последние 20 лет такие метаболические нарушения, как ожирение, сахарный диабет (СД), выступают как доминирующие факторы риска сердечно-сосудистой патологии [2]. По прогнозам к 2030 г. каждый 15-20 житель планеты будет иметь СД [3]. Наибольшую опасность для жизни и здоровья пациентов с данной патологией представляют его осложнения. Наличие метаболического синдрома (МС) увеличивает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний в 2-4 раза и смертельного исхода в течение ближайших 3-х лет на 29%.

Цель работы – провести анализ кислородзависимых процессов при инфаркте миокарда (ИМ) в сочетании с метаболическим синдромом.

Методика

Обследуемые пациенты были разделены на следующие группы: 1-я группа состояла из 15 соматически здоровых лиц, у которых отсутствовали анамнестические и клинические признаки ИБС; 2-я группа – 19 пациентов с ИБС: стабильной стенокардией напряжения, ФК II в сочетании с АГ 2-й степени риском 4 (по классификации ВОЗ), сердечной недостаточностью ФК I-II

степени (NYHA). Группа 3 включала 25 пациентов, с ИМ в сочетании с АГ 2-й степени риском 4 (по классификации ВОЗ), сердечной недостаточностью ФК I–II степени (NYHA). Группа 4 состояла из 27 пациентов с ИМ в сочетании с АГ 2-й степени риском 4 (по классификации ВОЗ), сердечной недостаточностью ФК I–II степени (NYHA) и СД 2-го типа. Группа 5 включала 25 пациентов женского и мужского пола с ИМ в сочетании с АГ 2-й степени риском 4 (по классификации ВОЗ), сердечной недостаточностью ФК I–II степени (NYHA) с МС.

Метаболический синдром оценивали по критериям, предложенные Международной диабетической федерацией в 2005 г. (абдоминальное ожирение, повышение уровня триглицеролов более 1,7 ммоль/л, снижение холестерина липопротеидов высокой плотности у мужчин менее 1,0 ммоль/л, у женщин менее 1,3 ммоль/л, повышение артериального давления более 130/85 мм рт.ст., повышение уровня глюкозы в плазме крови натощак более 5,6 ммоль/л или ранее диагностированный СД 2-го типа). На газоанализаторе Synthesis-15 (Instrumentation Laboratory) определяли напряжение кислорода (pO_2) и углекислого газа (pCO_2), насыщение крови кислородом (SO_2) и pH. Сродство гемоглобина к кислороду (СГК) оценивали по показателю $p50$ (pO_2 , соответствующее 50% насыщению гемоглобина кислородом). Активность свободнорадикальных процессов оценивалась по содержанию диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в крови. Уровень антиоксидантной защиты оценивался по содержанию α -токоферола и активности каталазы. Уровень общих нитритов в плазме определяли спектрофотометрически при длине волны 540 нм с реактивом Грисса на спектрофотометре Solar PV1251C. Содержание лептина определяли методом иммуноферментного анализа, используя наборы фирмы DRG LEPTIN ELISA.

Результаты и их обсуждение

Состояние кислородтранспортной функции крови у пациентов с ИМ отражает развитие гипоксии на 25-е сутки от начала заболевания и ее уменьшение на 60-е сутки. У данных пациентов на 25-е сутки отмечается сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) вправо, а к концу исследуемого периода она сдвигается вле-

во, что, очевидно, связано с улучшением резервных возможностей гемодинамического компонента системы транспорта кислорода.

В нашем исследовании степень окислительного стресса у пациентов с ИМ на 25-е сутки более выражена, чем у пациентов с ИБС: стабильной стенокардией напряжения, ФК II. У них отмечаются более высокие уровни диеновых конъюгатов и малонового диальдегида и снижение активности каталазы в эритроцитарной массе, концентрации α -токоферола, а на 60-е сутки от начала заболевания наблюдается уменьшение проявлений данного прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса. В связи с 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. 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 отражают развитие окислительного стресса на 25-ые сутки и его сохранение на 60-е. 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. Также 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 ИМ в сочетании с МС к концу 60-х суток от начала данного заболевания проявления кислородного дефицита уменьшаются в сравнении с 25-ми сутками. В то же время у данных пациентов не выявлено 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 артериальная гипертензия, курение). У данных пациентов выявлено повышение активности процессов свободнорадикального окисления липидов на 25-е сутки, а к концу 60-х суток ее активность существенно не менялась, и, соответственно, степень окислительного стресса не уменьшалась. Аналогичная ситуация имела место в подгруппе с СД 2-го типа: также не выявлено снижения степени прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса, а в подгруппе без СД 2-го типа после проводимой терапии отмечается уменьшение проявлений окислительного стресса. У 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 кровоток, как важнейшей составляющей функциональной системы транспорта кислорода.

Как известно, гиперлептинемия и ее взаимосвязь с гипергликемией, гиперинсулинемией, повышением уровня С-пептида и свободных жирных кислот позволяют рассматривать лептин в качестве одного из важных звеньев в цепи нарушений углеводного и липидного обмена и дополнительного маркера развития инсулинорезистентности при ИМ не только у пациентов с диабетическим анамнезом, но и без указанной сопутствующей патологии. Как видно из проведенных нами исследований, у пациентов в сочетании с СД 2-го типа или МС на 25-е сутки от начала заболевания отмечается высокий уровень лептина, значение которого снижается к 60-м суткам, но не достигает значения у здоровых. Характер изменения данного гормона коррелирует с такими показателями кислородтранспортной функции крови, как pO_2 , SO_2 и $p50$, что указывает на его значение для оксигенации тканей.

Таким образом, результаты выполненных исследований о характере изменения содержания лептина в постинфарктный

период (на 25-60-е сутки) отражают сложный характер его изменения и связь с кислородным обеспечением организма, участие в развитии гипоксического синдрома. Очевидно, уровень, динамику изменения лептина, его взаимосвязь с СГК можно использовать для оценки тяжести течения данной патологии.

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 и связанных с дисбалансом между резко возросшими потребностями в кислороде и субстратах метаболизма гипертрофированных кардиомиоцитов и сниженным уровнем кровоснабжения.

Таким образом, оценка эффекта патогенетической терапии с включением небиволола и симвастатина на кислородзависимые процессы 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 кислородтранспортной функции крови, дают возможность назначать дифференцированную адекватную терапию пациентам с ИМ в сочетании с МС и СД 2-го типа.

Библиографический список

1. Жиров, И. В. Снижение сердечно-сосудистой смертности: как работают способы улучшения приверженности лечению в эпоху трансляционной медицины / И. В. Жиров // Терапевтический архив. 2020. № 9. С.49-53.
2. Мамедов, М. Н. / Рациональный подход в лечении артериальной гипертензии у больных с высоким сердечно-сосудистым риском и метаболическими нарушениями // М. Н. Мамедов, М. Н. Ковригина, З. А. Тогузова // Кардиология. 2013. Т. 53. № 2. С. 85-89.
3. Дедова И.И., Мельниченко Г.А. Ожирение. // Медицинское информационное агентство, 2006. 456 с.

*А.В. Глуткин, С.М. Шелудько,
А.Р. Сёмуха, А.С. Сухоцкий⁵*

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕПАРАТИВНОГО ПРОЦЕССА ПРИ ОЖГОВОЙ ТРАВМЕ В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Аннотация. Проведено изучение прооксидантно-антиоксидантного баланса и репаративных процессов при термическом ожоге у детей. У данных пациентов отмечается увеличение активности свободнорадикальных процессов: рост содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в крови, уменьшение активности каталазы и содержания церулоплазмينا, активности репаративного процесса не наблюдалась.

Ключевые слова: термический ожог, дети, кислород, перекисное окисление липидов

*A.V. Hlutkin, S.M. Sheludko,
A.R. Semukha, A.S. Sukhotsky*

CHARACTERISTICS OF THE REPARATIVE PROCESS IN BURN INJURY UNDER CONDITIONS OF OXIDATIVE STRESS

Abstract. The study of the pro-oxidant-antioxidant balance and reparative processes in thermal burns in children was carried out. In these patients, there is an increase in the activity of free radical processes: an increase in the content of diene conjugates and malondialdehyde in the blood, a decrease in the activity of catalase and the content of ceruloplasmin, the activity of the reparative process was not observed.

Key words: thermal burn, children, oxygen, lipid peroxidation

Введение

Кислородзависимые процессы являются основой метаболизма всех клеток организма, определяя интенсивность окислительно-восстановительных реакций, биотрансформации энергии, детоксикации, свободнорадикального окисления липидов и др.

[1]. Недостаток кислорода в клетке – одна из причин, нарушающих процессы тканевого окисления, что в свою очередь может привести к развитию ее энергетической недостаточности, ткани и всего организма [2]. Нарушения кислородного и метаболического гомеостаза играют важную роль в развитии большинства тяжёлых критических состояний, в том числе термических ожогов [3]. Термическая травма представляет собой патологию, ведущим звеном в генезе которой является недостаточность системы транспорта кислорода, связанная, прежде всего, с гиповолемией и сопутствующей системной гипоперфузией [4].

Термическая травма приводит к нарушению функционирования ферментативных механизмов АОС, что проявляется в отсутствии адекватных изменений активности ферментов в ответ на изменения процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тканях. Ткань, подвергнутая воздействию высокой температуры, является источником свободных радикалов, запуская многие цепные реакции ПОЛ [5]. При термическом поражении отмечаются тяжелые нарушения в клетках организма, которые обусловлены расстройствами регионарного кровотока и микроциркуляции, развитием тяжелой гипоксии, усилением генерации АФК, прогрессирующей активации процессов липопероксидации и ослаблением механизмов антиоксидантной защиты (АОЗ) [6].

Целью данной работы – изучение прооксидантно-антиоксидантного баланса и репаративных процессов при термическом ожоге у детей.

Методика

На базе кафедры детской хирургии учреждения здравоохранения «Гродненская областная детская клиническая больница» было обследовано 47 детей, из них 32 пациента в возрасте от 8 до 24 месяцев с площадью ожогов от 8 до 25% (I, II, IIIA, IIIB). Во всех случаях ожог кожи был получен вследствие действия горячей жидкости. Все пациенты были госпитализированы в отделение реанимации и интенсивной терапии, где проводилась экстренная коррекция волевических, гидродинамических нарушений согласно клиническим протоколам. Все пациенты были разделены на 2 клинические группы: 1-ая группа (n=15): условно здоровые; 2-ая группа (n=21) - пациенты с ожоговой

травмой, которым проводилось лечение согласно протоколу. Пациенты между группами были сопоставимы по возрасту.

У всех детей, вошедших в исследование, на момент получения травмы отсутствовали какие-либо интеркуррентные заболевания. Также исключались пациенты детского возраста, получивших острое отравление продуктами горения и угарным газом, ожог дыхательных путей, химические ожоги или электротравму, а также в комбинации со скелетной или черепно-мозговой травмой. Проводили забор венозной крови у пациентов на 1-ые, 7-ые сутки от момента получения травмы.

В плазме и эритроцитарной массе определяли показатели процессов ПОЛ и состояния АОЗ. Уровень диеновых конъюгатов (ДК) измеряли на спектрофотометре «СФ-46» по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока в области спектра 232-234 нм, характерного для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов. Концентрацию малонового диальдегида (МДА) оценивали спектрофотометрически по насыщенности окраски триметинового комплекса розового цвета при длине волны 540 нм. Активность каталазы определяли по способности перекиси водорода образовывать с молибденовокислым аммонием (4-водный) стойко окрашенный комплекс при длине волны 410 нм на спектрофотометре Solar PV 1251C. Определение уровня церулоплазмينا осуществляли по методу Равина, который базируется на окислении р-фенилендиамина при участии церулоплазмينا. Проводили оценку репаративного процесса ожоговой раны. Полученные данные статистически обрабатывались с помощью программы «Statistica 10.0» (Statsoft Inc, US). Критический уровень статистической значимости принимали за $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Было выявлено увеличение в плазме и эритроцитарной массе уровня ДК и МДА через 12 часов от момента получения ожога и его снижение в последующем. Через 12 часов от возникновения ожога происходит снижение степени АОЗ, а затем постепенно её усиление. Активность каталазы снижается через 12 часов с 24,07 (22,17; 25,87) до 13,82 (10,88; 15,58), ($p < 0,0001$) ммоль H_2O_2 /мин/г Нб. На 7-ые сутки её значения составило 20,16 (17,38; 22,10) ммоль H_2O_2 /мин/г Нб, соответственно. При

этом состоянии отмечалось снижения содержания церулоплазмина, наиболее значимо через 12 часов и затем некоторое повышение, не достигающее уровня здоровых.

При ожогах II степени наступала полная эпителизация, а в случае более глубокого поражения тканей (ожоги IIIА-IIIБ степени) рану очищали от некротических масс. При этом (2 фаза раневого процесса) использовались влажно-высыхающие повязки с антисептиками и антибактериальные мази. Спустя 2-3 перевязки наблюдалось заживление ожоговой раны (IIIА степень) путём островковой и краевой эпителизации за счёт восстановления ишемизированных тканей и дериватов кожи. Не отмечалось сокращения продолжительности периода очищения ран от омертвевших тканей до эпителизации. Установлено, что при поступлении площадь глубоких ожогов во 2-й группе составила около 3%, соответственно, но при применении стандартной терапии ее величина уменьшилась на 0,5-0,8%. Как видно из проведенных нами исследований, вследствие термической травмы через 12 часов наблюдается развитие окислительного стресса во всех исследуемых группах и его достоверное уменьшение на 7-ые сутки, однако при местной оценке раны, не отмечалось выраженных регенеративных изменений в ранах.

Библиографический список

1. Mendonça Machado, N. Burns, metabolism and nutritional requirements / N. Mendonça Machado, A. Gragnani, L. Masako Ferreira // Nutr. Hosp. 2011. Vol. 26, № 4. P. 692-700.

2. Нестеров, Ю.В. Оказание экстренной помощи в остром периоде ожоговой болезни при техногенных чрезвычайных ситуациях / Ю.В. Нестеров, Е.В. Зиновьев, Г.К. Ивахнюк // Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института. 2012. № 13. С. 87-90.

3. Adjunctive hyperbaric oxygen therapy in the treatment of thermal burns / P. Cianci [et al.] // Undersea Hyperb. Med. 2013. Vol. 40, № 1. P. 89-108.

4. Hardy, P.T. A review of thermal MR injuries / P.T. Hardy, K.M. Weil // Radiol. Technol. 2010. Vol. 81, № 6. P. 606-609.

5. Al-Kaisy, A.A. Role of the antioxidant effect of vitamin e with vitamin C and topical povidone-iodine ointment in the treatment

of burns / A.A. Al-Kaisy, A. Salih Sahib // Ann Burns Fire Disasters. 2005. Vol. 18, № 1. P. 19-30.

6. Цитопротекторный эффект цитофлавина при лечении термической травмы различной степени тяжести / А.Ю. Боженов [и др.] // Саратовский научно-медицинский журнал. 2012. Т. 8, № 1. С. 38-42.

УДК 616-002.585

Глуткина Н.В., Велисейчик А.А., Норик С.Ф.⁶

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМОВ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА ПРИ САРКОИДОЗЕ БЕКА

Аннотация. Анализируются особенности распределения частот аллелей и генотипов полиморфизмов G894T гена eNOC-3 у пациентов с саркоидозом Бека (2-ая стадия, легочно-медиастинальная форма, активная фаза).

Ключевые слова: саркоидоз, монооксид азота, генотип, аллели.

Glutkina N. V., Veliseychyk A. A., Norik S. F.

FEATURES OF THE FREQUENCY DISTRIBUTION OF ALLELES AND GENOTYPES OF POLYMORPHIC VARIANTS OF THE G894T ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE GENE IN PATIENTS WITH BECK'S SARCOIDOSIS

Abstract. The features of the frequency distribution of alleles and genotypes of the G894T polymorphisms of the eNOC-3 gene in patients with Beck's sarcoidosis (stage 2, pulmonary-mediastinal form, active phase) are analyzed.

Key words: sarcoidosis, nitrogen monoxide, genotype, alleles.

Введение

Саркоидоз представляет собой воспалительное заболевание неизвестной этиологии, которое характеризуется мульти-

стемным поражением различных органов (чаще легочная ткань и внутригрудные лимфатические узлы) и образованием в пораженных тканях эпителиодных гранулем. Заболеваемость саркоидозом в Республике Беларусь составляет 3,9 на 100.000. Основной контингент пациентов с данной патологией - лица молодого возраста (пик заболеваемости приходится на 25-35 лет), которые ведут активный образ жизни (женщины болеют несколько чаще, чем мужчины) [1]. В настоящее время нет единого мнения об этиологии данного заболевания. Существуют несколько гипотез: связанные с инфекционными агентами, выступающие в роли триггера (микобактерии, *Chlaedphila pneumpiae* и другие); окружающей средой; курением; наследственностью [2]. На ранних стадиях заболевания преобладает малосимптомная клиническая картина (в 30-70% всех случаев), выявляемого только по наличию характерных изменений на рентгенограмме органов грудной клетки. Разнообразие клинических симптомов саркоидоза существенно удлинняет процесс постановки диагноза и приводит к большому числу диагностических ошибок (до 70%), поэтому поиск новых способов диагностики, своевременное и адекватное лечение данной патологии весьма важно для профилактики его осложнений, формирование которых во многом зависит от сроков постановки данного диагноза. Монооксид азота является потенциально важным иммуномодулятором, угнетающим высвобождение ряда ключевых провоспалительных цитокинов. В связи со сложной природой участия NO в обеспечении различных функций организма должны существовать эффективные механизмы регуляции его уровня и при саркоидозе. Поскольку саркоидоз характеризуется гранулематозным воспалением дыхательных путей, логично предположить, что уровень фракционного выдыхаемого NO может меняться [3].

Целью исследования явилась изучение молекулярно-генетических особенностей механизмов транспорта кислорода при саркоидозе Бека.

Методы исследования

Объектом исследования были 30 пациентов с саркоидозом Бека (2-ая стадия, легочно-медиастинальная форма, активная фаза.

Забор крови выполнялся локтевой вены в состоянии покоя в шприц. Определение полиморфных вариантов гена эNOC-3 по одному локусу G984T, проводили методом полимеразной цепной реакции с детекцией результата в режиме реального времени.

Статистический анализ осуществляли с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft). Распределение генотипов изучаемого полиморфного локуса проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга по критерию χ^2 Пирсона. При нормальном распределении количественных признаков статистическую значимость различий оценивали по t-критерию для независимых выборок, данные описывали: среднее $\pm$ стандартное отклонение. При распределении, отличающемся от нормального, статистическую значимость различий определяли по критерию Манна-Уитни. Результаты представляли в виде: медиана [25 перцентиль; 75 перцентиль]. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Была проведена оценка распределения частот аллелей полиморфизмов G894T гена эNOC-3 у пациентов саркоидозом. Распределение полиморфных вариантов изучаемого гена в данной выборке не отклоняется от равновесия Харди-Вайнберга, что свидетельствует об отсутствии сторонних влияний (мутации, дрейф генов, не случайное скрещивание) на генетическую структуру данной выборки. При изучении частот распределения аллелей в данном контингенте установлено, что 96,7 % в генотипе присутствует аллель G, в то время как аллель T наличествует у 43,3 % добровольцев. При оценке встречаемости генотипов полиморфизма G894T у обследуемых лиц нами было выявлено, что гомозиготный доминантный генотип (GG) имеется у 56,7 % выборки. Гетерозиготный генотип изучаемого полиморфизма был определен у 36,7 % тестируемых лиц. Частота встречаемости рецессивного гомозиготного генотипа (TT) у данного контингента составляет всего 6,6 %. Результаты свидетельствуют, что в данной выборке генотип TT встречается в 8,5 раза реже, чем генотип GG, и в 5,5 раза реже, чем генотип GT. Особенности полиморфизмов указанного гена необходимо учитывать при оценке клинического статуса данного контингента и аэробных возможностей. Кроме того, следует обозначить важным

определения содержания метаболитов NO в крови при этой патологии. Выявление определенных взаимосвязей между состоянием L-аргинин-NO системы и течением саркоидоза дает надежду на то, что последующие расширенные исследования позволят получить более убедительные результаты в этом аспекте.

Таким образом, анализ собственных и литературных исследований позволяет заключить возможное участие полиморфизма гена эндотелиальной NO - синтазы в патогенезе саркоидоза.

Библиографический список

1. Бартош-Зеленая С.Ю., Евсикова И.А., Мамаева О.П., Найденов Т.В., Щербак С.Г. Показатели кардиореспираторного стресс-эхокардиографического теста у молодых лиц с саркоидозом легких на ранних стадиях // Медицинский алфавит. Серия «Современная функциональная диагностика». – 2019. – Т. 1, № 8 (383). – С. 35-41.

2. Железняк С.Г., Лощакова А.И., Браженко Н.А., Браженко О.Н., Цыган Н.В. Саркоидоз органов дыхания в начале III тысячелетия // Вестник российской военно-медицинской академии. – 2018. – Т. 61, № 1. – С. 240-244.

3. Визель И.Ю., Визель А.А., Шаймуратов Р.И. Фракция оксида азота в выдыхаемом воздухе у больных саркоидозом: от данных литературы к пилотному исследованию // Эффективная фармакотерапия. Пульмонология и оториноларингология. – 2013. – № 21. – С. 4-7.

УДК 612.127.2:577.121.7:615.35]-092.9

С.В. Глуткин, И.Э. Гуляй, В.В. Зинчук⁷

КИСЛОРОДНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ МЕЛАТОНИНА И МОДУЛЯТОРОВ СОДЕРЖАНИЯ СЕРОВОДОРОДА

Аннотация. В нашем исследовании выявлены эффекты моно и комбинированного назначения модуляторов продукции сероводорода при участии мелатонина на кислородное обеспечение

при окислительном стрессе. Данное влияние связано с регулированием содержания кислорода в крови, действием на респираторный или метаболический компоненты кислотно-основного состояния, изменениями внутриэритроцитарных механизмов, включением защитно-компенсаторных процессов адаптации.

Ключевые слова. Гипоксия, мелатонин, сероводород, кровь.

S.V. Hlutkin, I.E. Gulai, V.V. Zinchuk

BLOOD OXYGEN SUPPLY OF RATS IN OXIDATIVE STRESS UNDER ADMINISTRATION OF MELATONIN AND MODULATORS OF THE CONTENT OF HYDROGEN SULFIDE

Abstract. Our study presents the effects of mono and combined administration of modulators of hydrogen sulfide production with the participation of melatonin on oxygen supply under oxidative stress. This influence is associated with the regulation of the oxygen content in the blood, the effect on the respiratory or metabolic components of the acid-base state, changes in intra-erythrocytic mechanisms, activation of protective-compensatory adaptation processes.

Keywords. Hypoxia, melatonin, hydrogen sulfide, blood.

Введение

Гипоксическая устойчивость организма будет зависеть от включения адаптивных специфических реакций, которые определяются мобилизацией ресурсов защиты и возникновением психоэмоционального стресса, в ответ на продолжающееся снижение концентрации кислорода [1]. Выявленная взаимосвязь между напряжением кислорода и сероводородом (H_2S) в условиях гипоксии, привела к предположению, что H_2S может являться кислородным датчиком в гладкой мускулатуре и хеморецепторных клетках [2]. Цель данной работы – изучить кислородное обеспечение крови крыс при окислительном стрессе в условиях введения мелатонина и модуляторов содержания сероводорода.

Методика

Эксперименты были выполнены на 91 белой беспородной крысе-самце массой 220–300 г. Животные были разделены на 7 групп: 1-ая – контроль (интактные животные), 2-ая – гипоксия, 3-ья

– мелатонин+гипоксия, 4-ая – NaHS +гипоксия, 5-ая – мелатонин+NaHS +гипоксия, 6-ая – PAG +гипоксия, 7-ая – мелатонин+PAG +гипоксия. Через 30 минут после внутривентрального введения веществ животных помещали в камеру и подвергли одночасовому гипоксическому воздействию. В условиях адекватного наркоза проводили забор смешанной крови из правого предсердия сразу после извлечения крысы из камеры. На анализаторе газов крови «Stat Profile pHox plus L» (USA) определяли показатели кислородтранспортной функции крови (КТФ) и кислотно-основного состояния (КОС). Активность свободнорадикальных процессов оценивали по содержанию первичных (ДК), триеновых конъюгатов (ТК), и промежуточных (МДА) продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Содержание неферментативных и ферментативных компонентов антиоксидантной системы оценивали по содержанию восстановленного глутатиона (GSH), церулоплазмينا, активности каталазы. Определение газотрансмиттеров: суммарное содержание нитрат/нитритов и концентрация H_2S . Для анализа результатов использовали методы непараметрической статистики (Н-критерий Краскела-Уоллиса, U-критерий Манна-Уитни, Т-критерий Уилкоксона), коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r).

Результаты и их обсуждение

Гипоксическое воздействие приводит к увеличению р50реал (34,97 [23,76;40,78] мм рт. ст., $p<0,05$) в сравнении с контролем (25,59 [23,94;26,91] мм рт. ст.). Показатель р50станд в группе «гипоксия» (19,3 [15,2;24,8] мм рт. ст., $p<0,05$) снижается относительно интактных животных (26 [23,2;27,7] мм рт. ст.). Введение мелатонина до гипоксического воздействия приводит к сохранению значения р50реал (23,89 [20,26;29,23], мм рт. ст., $p<0,05$) на уровне контрольной группы, чем у крыс «гипоксия» (34,97 [23,76;40,78] мм рт. ст.).

После назначения донора и ингибитора H_2S совместно с мелатонином снижается значение р50реал до 22,95 [21,54;28,25] мм рт. ст. ($p<0,05$) и 23,79 [21,08;25,38] мм рт. ст. ($p<0,05$), соответственно, в сравнении с «гипоксия». Относительно группы «мелатонин+гипоксия» р50станд имеет более высокий уровень у «мелатонин + PAG + гипоксия» (25,3 [23,4;25,6] мм рт. ст., $p<0,05$). Необходимо отметить, что животные, получившие мелатонин и ингиби-

тор H_2S , имеют меньшее значение $p50_{\text{реал}}$ (23,79 [21,08;25,38] мм рт. ст., $p<0,05$) и большее $p\text{O}_2$ (14,4 [11,5;17,6] мм рт. ст., $p<0,05$) чем крысы, получившие только ингибитор H_2S (27,42 [23,42;31,87] мм рт. ст. и 9,15 [6,7;14,1] мм рт. ст., соответственно).

Гипоксическое воздействие приводит к нарушению КОС, смещению в сторону увеличения кислотности крови. Развивающийся метаболический ацидоз обусловлен, в первую очередь, снижением pH (7,073 [6,889;7,112], $p<0,05$), $p\text{CO}_2$ (41,2 [37,9;49,7] мм рт. ст., $p<0,05$) и HCO_3^- (11,4 [7,9;13], $p<0,05$), а также уменьшением TCO_2 , ABE, SBE и SBC. Введение мелатонина в меньшей степени приводит к понижению параметров КОС в сравнении с группой «гипоксия» ($p<0,05$). Выявлено, что уровень pH уменьшается в 4, 5, 6 группах, а увеличивается в 7 группе относительно контроля. Низкая концентрация кислорода во вдыхаемом воздухе приводит к снижению других показателей КОС во всех экспериментальных группах. В то же время наиболее высокие значения данных параметров в группах «мелатонин+L-аргинин+гипоксия» и «мелатонин+PAG+гипоксия».

В группе «гипоксия» наблюдается увеличение продуктов ПОЛ в эритроцитах (эр): ДКэр – 23,76 [22,68;24,48] $\Delta\text{D}_{278}/\text{мл}$ ($p<0,05$), ТКэр – 14,28 [12,96;15,12] $\Delta\text{D}_{278}/\text{мл}$ ($p<0,05$), МДАэр – 7,63 [6,83;9,47] мкмоль/л ($p<0,05$), в сравнении с контролем. Назначение мелатонина приводит к снижению первичных продуктов ПОЛ (20,94 [17,76;22,2] $\Delta\text{D}_{278}/\text{мл}$, ($p<0,05$) и 10,935 [9,665;13,02] $\Delta\text{D}_{278}/\text{мл}$ ($p<0,05$)) в эритроцитах относительно группы «гипоксия». Введение модуляторов H_2S обеспечивает снижение концентрации первичных продуктов ПОЛ в эритроцитах после гипоксии. Гипоксическое воздействие уменьшает содержание восстановленного глутатиона (44,22 [37,66;48,16] мкмоль/г Hb, $p<0,05$) в сравнении с контролем (55,25 [51,11;58,9] мкмоль/г Hb). Введение мелатонина увеличивает уровень восстановленного глутатиона (52,77 [49,26;56,9] мкмоль/г Hb, $p<0,05$) и снижает активность каталазы (14,73 [13,06;15,6] ммоль $\text{H}_2\text{O}_2/\text{мин}/\text{г}$ Hb, $p<0,05$) относительно группы «гипоксия». Комбинация донора H_2S и мелатонина повышает концентрацию восстановленного глутатиона (61,345 [56,4;64,84] мкмоль/г Hb, $p<0,05$) и поддерживает более низкую активность фермента (14,58 [9,21;16,5] ммоль $\text{H}_2\text{O}_2/\text{мин}/\text{г}$ Hb, $p<0,05$) относительно «гипоксия»,

а также увеличивает содержание церулоплазмينا (234 [191;266] мг/л, $p<0,05$) чем у «мелатонин + гипоксия».

После гипоксического воздействия наблюдается повышение суммарного содержания нитрат/нитритов (23,82 [21,13;27,94] мкмоль/л, $p<0,01$) и снижение концентрации H_2S (6,76 [6,36;8,67] мкмоль/л, $p<0,05$) в плазме в сравнении с контролем (17,15 [14,5;19,12] мкмоль/л и 7,81 [7,6;10,63] мкмоль/л, соответственно). Введение мелатонина увеличивает уровень H_2S (9,995 [8,635;12,16] мкмоль/л, $p<0,01$) относительно группы «гипоксия». После введения модуляторов H_2S и гипоксического воздействия суммарное содержание нитрат/нитритов имеет меньшее значение в группах «NaSH + гипоксия» (17,94 [14,28;19,68] мкмоль/л, $p<0,01$) и «мелатонин + NaSH + гипоксия» (13,13 [12,94;13,75] мкмоль/л, $p<0,001$) чем у крыс «гипоксия», но выше чем у «мелатонин + гипоксия». Уровень H_2S относительно животных, подвергнутых гипоксическому воздействию, увеличивается в группах «Мелатонин + NaSH + гипоксия» (10,68 [8;13,2] мкмоль/л, $p<0,01$) и «Мелатонин + PAG + гипоксия» (11,82 [7,73;14,54] мкмоль/л, $p<0,01$). Введение мелатонина до гипоксии понижает $p50$ реал, улучшает показатели КОС, снижает активность процессов ПОЛ в эритроцитах, что может быть связано и с участием в этих процессах H_2S . Установлены в этой группе корреляционные связи между $p50$ станд и $p50$ реал ($r=0,86$), уровнем H_2S ($r=0,59$), HCO_3^- ($r=0,55$), TCO_2 ($r=0,56$), ABE ($r=0,54$), а также между МДАэр и Hb ($r=0,63$), H_2S ($r=0,67$).

Донор H_2S не оказывает влияние на кислородсвязывающие свойства крови в условиях гипоксии, но препятствует активации свободнорадикальным процессам в крови. Реакции образования NO в этих условиях будут зависеть от следующих переменных: ДКэр ($r=0,62$), ТКэр ($r=0,75$), МДАэр ($r=0,65$), восстановленный глутатион ($r=0,67$), активность каталазы ($r=0,66$), H_2S ($r=-0,68$). Совместное введение мелатонина с NaSH уменьшает $p50$ при реальных условиях среды, компенсирует метаболический ацидоз, обеспечивает внутриэритроцитарную антиоксидантную защиту. Понижение $p50$ может быть связано с увеличением содержания восстановленного глутатиона ($r=-0,63$).

Назначение ингибитора H_2S не оказывает действие на кислородсвязывающие свойства крови и КОС, но снижает уровень продуктов ПОЛ, что связано с концентрацией H_2S ($r=-0,61$). Комбина-

ция мелатонина и PAG повышает дезоксигенацию крови (увеличение $p50$ при реальных условиях среды), что коррелируется с показателями КОС ($r > -0,7$), приводит к избыточному выведению углекислого газа из организма и падению pCO_2 , развитию газового алкалоза (корреляция с содержанием H_2S , $r = 0,65$), снижению активности свободнорадикальных процессов в крови крыс.

Таким образом, в нашем исследовании выявлены эффекты моно и комбинированного назначения модуляторов продукции H_2S при участии мелатонина на кислородное обеспечение крови при окислительном стрессе. Их влияние связано с регулированием содержания кислорода в крови, действием на респираторный или метаболический компоненты кислотно-основного состояния, изменениями внутриэритроцитарных механизмов, включением защитно-компенсаторных процессов адаптации.

Библиографический список

1. Сороко, С.И. Значение стресс-реакции в интегративном ответе организма человека на острое гипоксическое воздействие // Вестник образования и развития науки Российской академии естественных наук. 2016. Т. 20, № 4. С. 88-95.
2. Evolutionary and comparative aspects of nitric oxide, carbon monoxide and hydrogen sulfide / K.R. Olson, J.A. Donald, R.A. Dombkowski [et al.] // Respir. Physiol. Neurobiol. 2012. Vol. 184, № 2. P. 117-29.

УД 616.137.83-005.4-084-085.225.3

В.Н. Засимович, В.В. Зинчук, Н.Н. Иоскевич²⁸

ПРИМЕНЕНИЕ КОРВИТИНА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ РЕПЕРFUЗИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ТКАНЕЙ ПРИ СИНДРОМЕ ИШЕМИИ-РЕПЕРFUЗИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Аннотация. Нарушение прооксидантно-антиоксидантного состояния (ПАС) крови – основное звено синдрома ишемии-реперфузии. Показатели ПАС в венозной крови предплечья исследованы у 103 пациентов с атеросклеротической окклюзией бедренной артерии и после реваскуля-

ризации. Рост содержания продуктов перекисного окисления липидов и уменьшение антиоксидантов на 3-и сутки после операции менее выражены при использовании корвитина, а к 8-м суткам показатели ПАС не отличаются от здоровых лиц.

Ключевые слова: ишемия-реперфузия, корвитин, атеросклероз, перекисное окисление липидов, антиоксиданты.

V.N. Zasimovich, V.V. Zinchuk, N.N. Ioskevich

THE APPLICATION OF CORVITIN FOR THE PREVENTION OF TISSUE REPERFUSION INJURIES IN THE SYNDROME OF ISCHEMIA-REPERFUSION OF THE LOWER LIMBS

Abstract. Violation of the prooxidant-antioxidant state (PAS) of the blood is the main link in the ischemia-reperfusion syndrome. PAS parameters in the venous blood of the forearm were studied in 103 patients with atherosclerotic occlusion of the femoral artery and after revascularization. An increase in the content of lipid peroxidation products and a decrease in antioxidants after surgery are less pronounced with the use of Corvitin, and by the 8th day the PAS indices do not differ from healthy individuals.

Key words: ischemia-reperfusion, Corvitin, atherosclerosis, lipid peroxidation, antioxidants.

Введение

У пациентов с хронической ишемией нижних конечностей, обусловленной атеросклеротическим поражением их артерий, после хирургического восстановления магистрального притока крови быстрого и адекватного восстановления периферического кровообращения не происходит [1]. Развивающийся реперфузионно-реоксигенационный синдром (РРС) оказывает депрессивное влияние не только на ткани нижней конечности, но и на удаленные органы – почки, сердце, легкие, центральную нервную систему. Нарушение кислородтранспортной функции крови обусловлено нарушением при ишемии-реперфузии ее прооксидантно-антиоксидантного состояния (ПАС) [2]. С целью предупреждения и коррекции реперфузионных повреждений представляется важным изучение ПАС в крови из системного кровотока и поиск способов профилактики и коррекции РРС [3].

Методика

В исследование включены 118 пациентов-мужчин. Из них 15, без проявлений атеросклероза, составили контрольную группу. Среди пациентов с атеросклеротической окклюзией поверхностной бедренной артерии (ПБА) II стадия хронической артериальной недостаточности нижней конечности (ХАННК) диагностирована в 31 наблюдении, III стадия - в 44, IV стадия - в 28. Реваскуляризация осуществлялась предложенным нами методом ретроградной эверсионно-петлевой эндатерэктомии из ПБА (патент № 23181). Пациенты I группы (n=52) получали традиционное медикаментозное сопровождение, во II группе (n=51) – дополнительно биофлавоноид антиоксидантного и капилляростабилизирующего действия корвитин в виде инфузии по 500 мг через 12 часов. У всех пациентов до операции, на 3-и и 8-е сутки послеоперационного периода в крови из вены локтевого сгиба определялись показатели ПАС. В эритроцитах исследовалось содержание диеновых и триеновых конъюгатов (ДКЭр и ТКЭр), малонового диальдегида (МДАЭр), атак же – восстановленный глутатион (GSH) и активность каталазы. В плазме изучали показатели ДКпл, ТКпл, МДАпл, церулоплазмينا, α -токоферола и ретинола.

Результаты и их обсуждение

В период ХАННК нарушение ПАС венозной крови проявляется увеличением содержания в плазме и эритроцитах продуктов перекисного окисления (ПОЛ) и уменьшение концентрации и активности антиоксидантов (АО). При нарастании стадии ХАННК эти изменения прогрессируют, что сопровождается уменьшением утилизации кислорода тканями. В частности, увеличение концентрации ДК в плазме венозной крови предплечья по сравнению с группой здоровых лиц составило при II стадии 77,3%, при III – 121,3% (табл. 1), при IV – 157,3%, а уменьшение концентрации α -токоферола – 6,7%, 16,0% и 24,4% соответственно ($p < 0,05$).

Реваскуляризация нижней конечности сопровождается резким увеличением объема кислорода, доставляемого к ишемизированным тканям, но активированное ПОЛ и истощенная АОС защиты характеризуют их неготовность к «кислородному взрыву». В I группе наблюдений увеличение содержания ТКпл на 3-и сутки после операции к дооперационным значениям составило при II ста-

дии ХАННК 42,9%, при III – 25,5% (табл. 1), при IV – 23,3%, а по отношению к здоровым лицам – 106,9%, 120,7% и 155,2% соответственно ($p<0,05$). В дальнейшем содержание продуктов ПОЛ в эритроцитах и плазме снижалось, а концентрация АО увеличивались, но к 8-м суткам все показатели не достигали исходных ($p<0,05$). Кверцетин, как действующее вещество корвитина, тормозит продукцию интерлейкинов, снижает активность лимфоцитов, ремодулирует микроциркуляцию без изменений сосудистого тонуса, снижает выработку цитотоксического супероксид-аниона [4]. Во II группе на фоне использования корвитина рост показателей содержания продуктов ПОЛ и уменьшение АО на 3-и сутки, по сравнению с I группой, были менее выраженными, а значения ДКэр, ТКэр и ретинола не существенно отличались от дооперационных ($p>0,05$). К окончанию раннего послеоперационного периода (8-е сутки) все показатели ПАС II группы не отличались от группы здоровых лиц ($p>0,05$).

Таким образом, использование корвитина значительно уменьшает нарушения ПАС венозной крови предплечья на 3-и сутки после реваскуляризации нижней конечности и способствует его нормализации к окончанию раннего послеоперационного периода, что позволяет улучшить результаты сосудистых реконструкций.

Библиографический список

1. Калинин Р.Е., Пшенников А.С., Сучков И.А. Реперфузионное повреждение тканей в хирургии артерий нижних конечностей // Новости хирургии. 2015. Т.23, № 3. С.348-352.
2. Засимович В.Н., Зинчук В.В., Иоскевич Н.Н., Гуляй И.Э. Прооксидантно-антиоксидантное состояние крови при хронической атеросклеротической окклюзии поверхностной бедренной артерии и после петлевой эндатерэктомии // Новости медико-биологических наук. 2020. Т.20, № 3. С.108-115.
3. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS) // Eur. Heart. 2017. Vol. 39. P. 763-816.
4. Тронько Н.Д., Кузнецова С.М., Черская М.С. Биофлавоноиды в лечении пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и церебральным атеросклерозом // Эндокринология. 2020. Т. 2, № 1. С.33-41.

**СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ЛЕЧЕНИИ
НАРУШЕНИЙ КИСЛОРОДНОГО ГОМЕОСТАЗА ПРИ
РЕПЕРФУЗИОННО-РЕОКСИГЕНАЦИОННОМ СИНДРОМЕ
В ХИРУРГИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ
НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ**

Аннотация. Реконструктивные операции на артериях бедренно-подколенно-берцового сегмента при хронической ишемии нижних конечностей сопровождаются развитием реперфузионно-реоксигенационного синдрома, характеризующегося нарушением кислородтранспортной функции и дисбалансом прооксидант-антиоксидантной системы крови. Защитной реакцией организма в таких условиях является изменение сродства гемоглобина к кислороду. Пантенол оказывает благоприятное влияние на течение реперфузионно-реоксигенационного синдрома.

Ключевые слова: реконструктивные артериальные операции, реперфузионно-реоксигенационный синдром, кислородтранспортная функция крови, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, пантенол.

N.N. Iaskevich, V.N. Zasimovich

MODERN CONCEPTS OF TREATMENT OF OXYGEN HOMEOSTASIS DISORDERS IN REPERFUSION-RHEOXYGENATION SYNDROME IN SURGERY OF CHRONIC ISCHEMIA OF THE LOWER LIMBS

Abstract. Reconstructive surgery on the arteries of the femoral-popliteal-tibial segment in chronic ischemia of the lower extremities is accompanied by the development of reperfusion-reoxygenation syndrome, characterized by impaired oxygen transport function and an imbalance of the prooxidant-antioxidant blood system. The body's defense reaction under such conditions is a change in the affinity of hemoglobin for oxygen. Panthenol has a beneficial effect on the course of reperfusion-reoxygenation syndrome.

Key words: obliterating atherosclerosis, arteries of the femoral-popliteal-tibial segment, chronic arterial insufficiency of the lower extremities, reconstructive arterial operations, reperfusion-reoxygenation syndrome, oxygen transport function of blood, lipid peroxidation, antioxidant system, panthenol.

Введение

Завершающим этапом многопланового лечения хронической артериальной недостаточности нижних конечностей (ХАННК) является выполнение реконструктивного артериального вмешательства [1]. Однако восстановление кровообращения в длительно ишемизированной нижней конечности сопровождается развитием в них сложного комплекса взаимосвязанных биохимических, физиологических и морфологических реакций [1, 2]. Они приводят к парадоксальному постишемическому ухудшению перфузии тканей, прежде всего мышц, с последующим их реперфузионным повреждением. Совокупность этих реакций на восстановление кровообращения получило название «реперфузионно-реоксигенационный синдром» (PPC) [3]. Перспективным направлением в его профилактике и лечении является «неантиоксидантный» путь предупреждения активации ПОЛ, развития окислительного стресса, основанный на использовании препаратов метаболического типа действия, характеризующихся высокой липо- и гидрофильностью. К их числу, прежде всего, относится группа производных пантотеновой кислоты – витамина B5, предшественника кофермента А, в частности препарат пантенол. Д – пантенол – ксенобиотический предшественник Д – пантотеновой кислоты и кофермента А, обладает высокой витаминной и метаболической активностью.

Целью настоящего исследования явилось изучение кислородтранспортной функции и прооксидант-антиоксидантного состояния крови при реперфузионно-реоксигенационном синдроме в хирургии хронических атеросклеротических ишемий нижних конечностей с разработкой способа его коррекции.

Методика

Закономерности течения реперфузионно-реоксигенационного синдрома (PPC) в реконструктивной хирургии артерий бедренно-подколенно-берцового сегмента при хрониче-

ской атеросклеротической ишемии нижних конечностей оценивались по данным изучения показателей кислородтранспортной функции крови (КТФК), ее перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы (АОС) у 147 пациентов, перенесших аутовенозное шунтирование на бедренно-подколенном сегменте. Из них 45 человек имели 2б стадию ХАННК, 63 - 3 стадию, 39 - 4 стадию. Операция шунтирования выполнялась под перидуральной анестезией. Контрольную группу составили 34 практически здоровых лица. Оценка эффективности препарата пантенола в лечении и профилактике РРС нижних конечностей производилась в группе из 48 пациентов, в том числе у 22 со 2б стадией ХАННК, у 26 – с 3 стадией. Пантенол вводился на фоне традиционного предоперационного лечения за 30-60 мин до начала выполнения шунтирующей артериальной операции внутримышечно в разовой дозе 1000 мг вместе с премедикацией (атропина сульфат 0,1% - 1,0 в сочетании с промедолом 1% - 1,0). Во время операции, пантенол инфузирова- лся в дистальное артериальное русло в разовой дозе 1000 мг в 20 мл изотонического раствора натрия хлорида. После операции препарат назначался в разовой дозе 1000 мг на 1-5 сутки внутривенно капельно, а на 6-10 сутки внутримышечно.

Показатели КТФ, ПОЛ и АОС изучались в венозной крови (10 мл) ишемизированных, а затем реперфузируемо- реоксигенированных нижних конечностей полученной путем пункции большой подкожной вены у ее истока (по наружному краю медиальной лодыжки). Забор крови производился до операции на 6 и 11 сутки послеоперационного периода. Изучение КТФК включало определение PO_2 , pCO_2 , pH и $p50_{\text{станд}}$, $p50_{\text{реал}}$ $p50_{\text{ГК}}$, C_vO_2 , CaO_2 и КЕК, HbO_2 , A/VO_2 , КИК. Активность перекисных реакций анализировалась по содержанию диеновых конъюгатов (ДК) и оснований Шиффа (ОШ). Состояние АОС оценивалось по концентрации АО неферментативного действия (α -токоферол, β -каротина) и ферментативного действия (каталитическая активность) в плазме крови.

Результаты и их обсуждение

Анализ КТФК у обследованных больных показал наличие у них сложного гипоксического синдрома, характеризующегося сочетанием всех известных типов гипоксии. Как полезную компенсаторно-приспособительную реакцию, направленную на улучшение

снабжения тканей кислородом в таких условиях, следует рассматривать уменьшение сродства гемоглобина к кислороду (СГК). Одновременно отмечается нарушение прооксидантно-антиоксидантного равновесия. У пациентов, по сравнению с группой практически здоровых лиц, происходит увеличение содержания ДК и ОШ, а также снижение как неферментативного, так и ферментативного звеньев АОС защиты ($p < 0,01$).

Восстановление магистрального артериального кровообращения в нижних конечностях сопровождается развитием РРС. Он характеризуется отсутствием нормализации КТФК включенных в кровоток нижних конечностях. У оперированных пациентов наблюдается повышенное поступление кислорода из крови к тканям на фоне снижения их способности к его утилизации. Резкое увеличение притока кислорода к ранее ишемизированным тканям инициирует процесс активной пероксидации липидов. Наиболее высокое содержание ДК и ОШ в крови оттекающей от реперфузируемо-реоксигенированных нижних конечностей наблюдается на 6 сутки послеоперационного периода. Затем уровень продуктов ПОЛ снижается. Однако к моменту выписки пациентов на амбулаторное лечение (11 сутки) он остается выше дооперационных значений ($p < 0,01$) во всех группах оперированных лиц. Активация свободно-радикальных процессов находится в прямо пропорциональной зависимости от исходной стадии хронической ишемии нижних конечностей ($r = 0,89$, $p < 0,01$). Изменение АОС в реперфузионно-реоксигенационном периоде отражает обратную динамику процессов ПОЛ.

Назначение пантенола приводит к предупреждению активации процессов ПОЛ в реперфузионно-реоксигенационном периоде. Так, на 6 сутки с момента выполнения хирургического вмешательства у лиц, оперированных по поводу 2б стадии ХАННК, содержание ДК и ОШ в ее венозной крови не отличается от дооперационных значений ($p > 0,5$). На 11 сутки концентрация продуктов ПОЛ снижается и не отличается от их величин в контроле ($p > 0,5$). У пациентов с исходной 3 стадией ХАННК концентрация ДК и ОШ на 6 сутки реперфузионно-реоксигенационного периода также не отличается от дооперационных значений ($p > 0,5$). На 11 сутки с момента выполнения операции содержание продуктов ПОЛ оказывается ниже исходных величин ($p < 0,01$) и приближается к значениям

практически здоровых лиц ($p < 0,05$). Отмеченная закономерность в изменении показателей свободно-радикальных процессов крови отражается на динамике содержания АО. На 6 сутки реперфузионно-реоксигенационного периода на фоне назначения пантенола в анализируемых группах больных, по сравнению с пациентами, не получавшими препарат, снижения концентрации АО в венозной крови не происходит ($p < 0,01$). Абсолютные величины как неферментативного, так и ферментативного звеньев АОС остаются у них на дооперационном уровне ($p > 0,5$). На 11 сутки с момента выполнения шунтирующей операции концентрация АО у пациентов с исходной 2б стадией ХНАК соответствует значениям практически здоровых лиц ($p > 0,5$). У больных, перенесших артериальную реконструкцию в связи с ХАННК 3 стадии, уровень АО превышает дооперационные величины ($p < 0,01$) и приближается к значениям практически здоровых лиц ($p < 0,05$). Назначение пантенола положительно влияет на состояние КТФ венозной крови из прооперированной нижней конечности. У пациентов с исходной 2б стадией ХАННК отсутствует повышение, по сравнению с дооперационным уровнем ($p > 0,5$) и больными, не получавшими пантенол ($p < 0,01$), величины pO_2 на 6 сутки послеоперационного периода. Одновременно достоверно увеличивается $pVCO_2$, снижается $pV50_{\text{станд}}$, $pV50_{\text{реальн}}$ и SvO_2 . На 11 сутки послеоперационного периода указанные показатели в данной группе больных отличаются от дооперационных величин ($p < 0,01$) и соответствуют их значениям в группе практически здоровых лиц ($p > 0,5$). У пациентов, оперированных по поводу 3 стадии ХАННК, на 6 сутки с момента выполнения артериальной реконструкции pO_2 в венозной крови нижних конечностей также не увеличивается по сравнению с больными, не получавшими пантенол ($p < 0,01$). Значение P_vCO_2 возрастают, а $pV50_{\text{станд}}$, $pV50_{\text{реальн}}$ и SvO_2 снижаются ($p < 0,01$). На 11 сутки анализируемые показатели достоверно улучшаются как по сравнению со значениями 6 суток, так и дооперационным уровнем ($p < 0,01$), приближаясь к их величинам в группе практически здоровых лиц ($p < 0,05$). Включение в комплексное лечение РРС пантенола улучшило его клиническое течение, что отразилось на отсутствии развития отека оперированных нижних конечностей.

Высокая эффективность пантенола в предупреждении реперфузионно-реоксигенационных нарушений нижних конечностей

в реконструктивной хирургии хронических атеросклеротических окклюзионно-стенотических поражений артерий бедренно-подколенно-берцового сегмента, по всей вероятности, реализуется, прежде всего, через АОС, затрагивая ее как неферментативное, так и ферментативное звено. Система пантотенат – кофермент А, формируя редокс – потенциал глутатиона, редокс – сигнализирование, поддерживает стабильность биологических мембран реперфузируемо-реоксигенированных клеток, их высокий энергетический уровень.

Библиографический список

1. Небылицын Ю.С., Лазуко С.С., Кутько Е.А. Синдром ишемии – реперфузии нижних конечностей // Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2018. №6. С. 18-31.
2. Maiocchi S, Alwis I, Wu MCL, Yuan Y, Jackson SP. Thromboinflammatory Functions of Platelets in Ischemia-Reperfusion Injury and Its Dysregulation in Diabetes // Semin Thromb Hemost. 2018 Mar;44(2):102-13. doi: 10.1055/s-0037-1613694.
3. Засимович В.Н., Иоскевич Н.Н. Реперфузионно-реоксигенационный синдром как проблема реконструктивной хирургии артерий при хронической ишемии нижних конечностей атеросклеротического генеза // Новости хирургии. 2017. №7. С.632-642.

УДК 616-001.17:618.2-06

Т.В. Ковальчук-Болбатун, С.М. Смотрин, И.Э. Гуляй¹⁰

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЕ СОСТОЯНИЕ У БЕРЕМЕННЫХ КРЫС С ТЕРМИЧЕСКИМ ОЖОГОМ КОЖИ

Аннотация. В опытах на 81 самке белых беспородных крыс с термическим ожогом кожи в разные периоды беременности установлено влияние термической травмы на состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса. Наблюдалась значительная активация свободнорадикальных процессов в острый период

ожоговой травмы, наряду с угнетением механизмов антиоксидантной защиты.

Ключевые слова: беременность, термический ожог кожи, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита.

T.V. Kovalchuk-Bolbatun, S.M. Smotrin, I.E. Gulyai

PROOXIDANT-ANTIOXIDANT STATE IN PREGNANT RATS WITH THERMAL SKIN BURN

Abstract. In experiments on 81 female white outbred rats with thermal skin burns at different periods of pregnancy, the effect of thermal injury on the state of the prooxidant-antioxidant balance was established. Significant activation of free radical processes was observed during the acute period of burn injury, along with inhibition of antioxidant defense mechanisms.

Key words: pregnancy, thermal skin burn, lipid peroxidation, antioxidant protection.

Введение

Травма во время беременности – ведущая не акушерская причина смерти матери и самая частая причина гибели плода. Особое внимание заслуживают термические поражения кожного покрова у беременных. Исход беременности при обширных и глубоких ожогах в большинстве случаев неблагоприятен. При таких ожогах возникают значительные сдвиги как в функции, так и в морфологии почти всех органов и систем [1]. В качестве ведущего звена патогенеза системной органной недостаточности при термических ожогах выделяют несостоятельность механизмов транспорта кислорода, связанную прежде всего с гиповолемией, нарушением микроциркуляции и сопутствующей ей системной гипоперфузией. При этом имеет существенное значение и чрезмерная активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [2]. Учитывая недостаточное исследование этих процессов у беременных с термическим повреждением, представляется целесообразным изучение прооксидантно-антиоксидантного состояния беременных крыс с термическим ожогом кожи в эксперименте. Известно, что у крысы, по аналогии с беременными женщинами, гемохориальный тип плацента-

ции и, идентично трем триместрам беременности, 3-недельная гестация. Это позволяет в экспериментах в динамике ультракороткого времени беременности более углубленно изучить нарушения процессов ПОЛ при термической травме [3].

Методика

Экспериментальное исследование проводилось на 81 беременной самке белых беспородных крыс массой 250-350г., которые были разделены на 4 группы (контрольную и три опытные). Первую опытную группу (n=27) составили беременные крысы, которым был произведен термический ожог кожи в раннем периоде беременности, вторая опытная группа (n=14) – термический ожог кожи в среднем периоде беременности, третья опытная группа (n=9) – термический ожог кожи в позднем периоде беременности. Согласно Европейской конвенции о гуманном обращении с лабораторными животными ожог наносили после введения тиопентала натрия (внутрибрюшинно, в дозе 50 мг/кг). Методика выполнения экспериментальной травмы предусматривала ожог III степени освобожденной от шерсти кожи спины. Ожог наносили горячей жидкостью (вода) температурой 99-100°C в течение 15 секунд специально разработанным устройством [4].

В результате воздействия термического агента создавались стандартные по площади (около 12 см²) ожоговые раны. В свою очередь все группы делились на подгруппы в зависимости от сроков выведения беременных самок из эксперимента (по 9 крыс в каждой подгруппе). Животные первой опытной группы (с термическим ожогом кожи на 3-е сутки) выводились из эксперимента на 6-е, 13-е и 20-е сутки беременности, животные второй опытной группы (с термическим ожогом кожи на 10-е сутки) – на 13-е и 20-е сутки беременности, животные третьей опытной группы (с термическим ожогом кожи на 17-е сутки) – на 20-е сутки беременности. Активность свободнорадикальных процессов оценивали по содержанию первичных – диеновые конъюгаты (ДК) и промежуточных - малоновый диальдегид (МДА) продуктов ПОЛ. Уровень ДК в плазме определяли по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока в области спектра 232–234нм, характерного для

конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов [5]. Оптическую плотность измеряли на спектрофлуориметре СМ 2203 «СОЛАР» (Беларусь) при длине волны 233нм по отношению к контролю. Концентрацию ДК выражали в $D_{233}/мл$. Содержание МДА оценивали по взаимодействию с 2'-тиобарбитуровой кислотой (ТБК), которая при нагревании в кислой среде приводит к образованию триметинового комплекса розового цвета [5]. Интенсивность окраски измеряли спектрофотометрически на спектрофотометре PV1251С «СОЛАР» (Беларусь) при длине волны 535нм по отношению к контролю. Концентрацию МДА выражали в $мкмоль/л$. Для определения активности каталазы в плазме использовали метод М. Королюк [6], основанный на спектрофотометрической регистрации количества окрашенного продукта реакции H_2O_2 с молибденово-кислым аммонием, имеющим максимальное светопоглощение при длине волны 410нм. Активность каталазы выражали в $нмольH_2O_2/мин/мг$ белка. За единицу активности принимали количество фермента, катализирующее образование 1 $ммоль$ продукта за 1 минуту в условиях испытания. Для определения содержания церулоплазмينا в плазме крови использовали модифицированный метод Равина [5], принцип метода которого основан на окислении *p*-фенилендамина при участии церулоплазмينا. Концентрацию α -токоферола и ретинола определяли по методу S.L. Taylor [7], основанному на определении интенсивности флуоресценции гексанового экстракта при длине волны возбуждения 286 нм и испускания 350нм (для α -токоферола) и при длине волны возбуждения 325 нм и испускания 470 нм (для ретинола) на спектрофлуориметре СМ 2203 «СОЛАР» (Беларусь). В контрольную пробу вместо исследуемого материала вносили аликвоту бидистиллированной воды, а в стандартную – рабочего раствора, приготовленного из стандартов α -токоферола и ретинола («Sigma»). Концентрацию α -токоферола и ретинола в плазме выражали в $мкмоль/л$.

Результаты и обсуждение

Изучение показателей, характеризующих прооксидантно-антиоксидантное состояние в организме беременных самок крыс, получивших термический ожог кожи, выявило увеличение

активности ПОЛ на фоне уменьшения антиоксидантной защиты (АОЗ). Так, состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса при моделировании термического ожога кожи у беременных крыс в раннем периоде беременности через трое суток (6-е сутки беременности) характеризовалось значительным подъемом концентрации ДК в плазме крови 2,4 D₂₃₃/мл в сравнении с контролем 1,3 D₂₃₃/мл. Уровень данного первичного продукта ПОЛ оставался увеличенным на 75% на 13-е сутки и на 67% на 20-е сутки беременности. Содержание МДА на 6-и сутки беременности повышалось на 27%, на 13-е - на 44%, но на 20-е достоверных различий с контрольной группой не наблюдалось.

В группе крыс с термическим ожогом кожи на 10-е сутки беременности (средний период) также отмечался значительный рост концентрации продуктов ПОЛ: на 13-е сутки беременности концентрация ДК возросла на 108%, МДА – на 52%. На 20-е сутки беременности уровень ДК и МДА оставался повышенным. В группе крыс с термическим ожогом кожи в позднем периоде беременности через трое суток после ожога содержание ДК увеличилось на 108%, МДА – на 36,6%.

На фоне возросшей активности процессов перекисного окисления липидов во всех трех опытных группах на 3-и сутки после ожога отмечалось значительное угнетение механизмов АОЗ. И только к 20-ым суткам беременности в первой опытной группе наблюдалась тенденция к увеличению уровня α -токоферола и ретинола.

Проведенное исследование у беременных крыс с термическим ожогом кожи свидетельствует о значительной активации свободнорадикальных процессов в острый период ожоговой травмы. Наряду с этим происходит угнетение механизмов АОЗ, вследствие чего возникает прооксидантно-антиоксидантный дисбаланс и развивается окислительный стресс.

Библиографический список

1. Шифман, Е. М. Травма во время беременности / Е. М. Шифман, А. В. Пырегов // Медицинский алфавит. Неотложная медицина. 2010. Т.1. Вып. 2. С. 36-38.
2. Parihar, A. Oxidative stress and anti-oxidative mobilization in burn injury / A. Parihar [et al.] // Burns. 2008. Vol. 34. P. 6–17.

3. Гужвина Е. Н. Применение природного препарата «ТРАУМЕЛЬ С» для лечения плацентарной недостаточности в эксперименте / Е. Н. Гужвина, Л. И. Ильенко, Е. Л. Туманова, Н. Н. Тризно, Л. А. Бахмутова // Астраханский медицинский журнал. 2011. Т.6. Вып. 3. С. 72-76.

4. Устройство для моделирования ожоговой раны у лабораторного животного: пат. 7927 Респ. Беларусь, А.В. Глуткин, Т.В. Ковальчук, В.И. Ковальчук; заявитель Грод. гос. мед. ун-т - № и 20110576; заявл. 15.07.11; опубл. 28.02.12. // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. 2012. № 1. С. 256.

5. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 томах. Том 1. / В. С. Камышников. 2-е изд. Мн.: Беларусь, 2002. 465 с.

6. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. № 1. С. 16–19.

7. Taylor, S.L. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis / S.L. Taylor, M.P. Lamden, A.L. Tappel // Lipids. 1976. Vol. 11, № 7. P. 530–538.

УДК: 612.127.2(088.83)

П.М. Королев¹¹

ПРОБЛЕМЫ КИСЛОРОДНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ОРГАНИЗМА В ПАТЕНТАХ БЕЛОРУССКИХ УЧЁНЫХ

Аннотация. В работе представлен анализ изобретательской активности белорусских учёных по проблеме исследования кислородного обеспечения организма человека и животных. Для поиска патентов по теме исследования были использованы электронные базы данных Белгоспатента, Всемирной организации интеллектуальной собственности, Европейского и Евразийского патентных ведомств. Выявлены ведущие научные учреждения, имеющие наибольшее количество патентов по теме исследования.

Ключевые слова: снабжение организма кислородом, кислородтранспортная функция крови, средство гемоглобина к кислороду.

PROBLEMS OF OXYGEN SUPPLY TO THE BODY IN PATENTS OF BELARUSIAN SCIENTISTS

Annotation. The paper presents an analysis of the inventive activity of Belarusian scientists on the problem of studying oxygen supply to the human and animal body. To search for patents on the research topic, the electronic databases of the Belgospatent, the World Intellectual Property Organization, the European and Eurasian Patent Offices were used. The leading scientific institutions with the largest number of patents on the research topic have been identified.

Key words: supply of oxygen to the body, oxygen transport function of the blood, affinity of hemoglobin for oxygen.

Введение

Проблеме изучения кислородного обеспечения организма посвящено большое количество научных публикаций [1,2,3,4]. Убедительным подтверждением актуальности исследований по проблеме снабжения организма кислородом является факт присуждения Нобелевской премии по физиологии и медицине в 2019 году британцу Питеру Рэтклиффу и американцам Уильяму Кэлину и Грэггу Семенца за выяснение молекулярных механизмов, регулирующих активность генов в ответ на различные уровни кислорода в окружающей среде и механизм адаптации клеток к его дефициту.

Однако в научно-медицинской литературе недостаточно отражена изобретательская активность научных учреждений Республики Беларусь по указанной проблеме. Следует подчеркнуть, что одним из важных критериев, определяющих деятельность и признание научных учреждений, является изобретательский потенциал, способствующий формированию международного имиджа.

Цель работы – количественный анализ патентования изобретений белорусских учёных по различным аспектам исследования проблемы кислородного обеспечения организма в эксперименте и клинике.

Методика

Для реализации поставленной цели был осуществлен патентный поиск в базах данных электронных поисковых систем

Национального центра интеллектуальной собственности Государственного комитета по науке и технологиям Республики Беларусь (Белгоспатент), Всемирной организации интеллектуальной собственности (Patentscope), Европейского (ЕРО) и Евразийского (ЕАРО) патентных ведомств. Данные представлены по состоянию на 15 февраля 2021 г.

Результаты и их обсуждение

Суммарно по теме исследования выявлено 78 патентов, полученных белорусскими учёными. Перечень патентных ведомств с указанием количества выданных ими патентов представлен в таблице.

Таблица

Количественная характеристика патентования по теме исследования

Патентные ведомства	Код	URL-адрес	Количество выданных патентов
Патентное ведомство Республики Беларусь (Белгоспатент)	BY	www.belgospatent.org.by	59
Всемирная организация интеллектуальной собственности (ВОИС)	WO	www.wipo.int	8
Европейское патентное ведомство (ЕПВ)	EP	www.epo.org	6
Евразийское патентное ведомство (ЕАПВ)	EA	www.eapo.org	5

Анализ данных таблицы показывает, что патентное ведомство Республики Беларусь выдало 59 охранных документов по теме исследования. В процессе патентования принимали участие многие научные учреждения Национальной академии наук Беларуси (Институт физиологии, Институт физики им. Б.И. Степанова, и др.), учреждения Министерства здравоохранения Республики Беларусь (РНПЦ неврологии и нейрохирургии, РНПЦ «Кардиология»), 4 государственных медицинских университета страны - Белорусский,

Витебский, Гомельский и Гродненский), Белорусская медицинская академия последипломного образования.

Наиболее высокую изобретательскую активность проявили сотрудники Гродненского государственного медицинского университета, получившие 31 патента по теме исследования, что составило 52 % от общего количества охранных документов, выданных Национальным патентным ведомством Беларуси. Указанный результат объясняется тем фактом, что ещё в 1982 г. в ЦНИЛ Гродненского мединститута была создана лаборатория по исследованию кислородтранспортной функции крови под руководством проф. Борисюка М.В. Впоследствии на базе указанной лаборатории была создана научная школа «Системные механизмы транспорта кислорода», руководителем которой с 1997 г. является проф. Зинчук В.В. [5]. Научная школа объединила сотрудников вуза, выполняющих экспериментальные и клинические исследования, связанные с ее тематической направленностью. Существенный вклад в проблему исследования снабжения кислородом тканей организма человека внесли сотрудники Института физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, который имеет 17 патентов Национального патентного ведомства Беларуси и 6 патентов, выданных международными патентными ведомствами. К приоритетным направлениям исследований белорусских физиков относятся исследования в области медицинских лазерных технологий. Методами лазерной кинетической спектроскопии исследуются процессы и реакции с участием молекулярного кислорода. Главное внимание уделяется его реакциям с молекулами гемоглобина, миоглобина и цитохром с-оксидазы. Кроме того, ведутся исследования молекулярного кислорода в его возбужденном синглетном состоянии. Эта активная форма кислорода играет ключевую роль в процессах, протекающих при фотодинамическом разрушении опухолевых клеток. Аппаратура, методики лечения и диагностики самых разных заболеваний используются в большинстве белорусских клиник и медиками многих стран. Отрадно отметить, что белорусские учёные принимали участие в системе международного патентования, обеспечивающего заявителям и авторам возможность патентовать свои изобретения во многих странах мира, подавая одну заявку в международное па-

тентное ведомство. За период исследования было получено 8 патентов Всемирной организации интеллектуальной собственности, 6 – Европейского патентного ведомства, 5 – Евразийского патентного ведомства.

Выводы

Полученные в работе результаты свидетельствуют о том, что белорусские учёные принимали достаточно активное участие в патентовании изобретений, касающихся проблемы кислородного обеспечения организма, как в своей стране, так и в международных патентных ведомствах. Лидирующие позиции по суммарному количеству полученных патентов занимают Гродненский государственный медицинский университет и Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси.

Приведенная в работе информация может быть полезна для широкого круга научных и медицинских работников, занимающихся проблемой разработки и патентования изобретений для исследования кислородного обеспечения организма человека и животных.

Библиографический список

1. Зинчук, В.В. Функциональная система транспорта кислорода: фундаментальные и клинические аспекты / В.В. Зинчук, Н.А. Максимович, М.В. Борисюк; под ред. проф. Зинчука В.В. - Гродно, 2003. 236 с.
2. Зинчук, В.В. Молекулярно-генетические аспекты формирования кислородного обеспечения организма / В.В. Зинчук // Кислород и свободные радикалы: сборник научно-практической конференции 15-16 мая 2018 года / под ред. проф. В.В. Зинчука. – Гродно, ГрГМУ, 2018. С. 65-68.
3. Чеснокова, Н.П. Физиология транспорта газов кровью и кислородного обеспечения тканей / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, В.В. Моррисон, М.Н. Бизенкова // Научное обозрение. Медицинские науки. 2017. № 2. С. 40-42.
4. Овчинникова О.А. Функциональное значение системы транспорта кислорода и механизмов ее регуляции в норме и при нарушениях функции дыхания: спец.: 03.03.01 «Биология»: дисс. ... канд. ... биол. наук / О. А. Овчинникова. - Ярославль, 2011. 152 с.

5. Научные школы Гродненского государственного медицинского университета: монография / под. ред. В.А. Снежицкого, В.В. Зинчука. – Гродно: ГрГМУ, 2013. 314 с.

УДК 612.128:577.114.7:577.121/-092.4

М.Э. Фираго

**ВКЛАД ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ В РАЗВИТИЕ
ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА, ВЫЗВАННОГО
ВВЕДЕНИЕМ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА**

Аннотация. Изучен эффект газотрансмиттеров на прооксидантно-антиоксидантное состояние и кислородсвязывающие свойства крови при трехкратном введении липополисахарида. Исходный субстрат синтеза NO (L-аргинин) и донор H₂S (NaHS) в условиях действия эндотоксина уменьшают активность свободнорадикального окисления, повышают антиоксидантный потенциал организма, увеличивают суммарное содержание нитрат/нитритов и концентрацию сероводорода, а также оказывают влияние на кислородсвязывающие свойства крови.

Ключевые слова: окислительный стресс, липополисахарид, газотрансмиттер, монооксид азота, сероводород.

М.Е. Firago

**THE CONTRIBUTION OF GASEOUS TRANSMITTERS TO THE
DEVELOPMENT OF OXIDATIVE STRESS CAUSED BY THE
INTRODUCTION OF LIPOPOLYSACCHARIDE**

Abstract. The effect of gaseous transmitters on the prooxidant-antioxidant state and oxygen-binding properties of blood was studied after a triple administration of lipopolysaccharide. The initial substrate for NO synthesis (L-arginine) and the H₂S donor (NaHS) under the conditions of endotoxin action reduce the activity of free radical oxidation, increase the antioxidant potential of the body, increase the total content of nitrate / nitrites and the concentration of hydrogen sulfide, and also affect the oxygen-binding properties of blood.

Key words: oxidative stress, lipopolysaccharide, gaseous transmitters, nitrogen monoxide, hydrogen sulfide.

Введение

В настоящее время окислительный стресс (ОС), возникающий в результате активации эндогенных механизмов генерации активных форм кислорода (АФК) и азота, ослабления антиоксидантной защиты организма, рассматривается в качестве важного патогенетического звена при возникновении и развитии многочисленных заболеваний [1]. ОС провоцируют многие факторы, одним из них является липополисахарид (ЛПС) – компонент наружной мембраны грамотрицательных бактерий [2]. Важный вклад в сложную иерархию защиты от АФК вносят газотрансмиттеры, такие как монооксид азота (NO) и сероводород (H₂S), которые обладают внутриклеточной сигнальной трансдукцией и играют важную роль в регуляции различных физиологических реакций [3]. Несмотря на наличие ряд работ, посвященных изучению эффектов и механизмов действия газотрансмиттеров на организм, вопрос об изменении прооксидантно-антиоксидантного состояния, а также кислородсвязывающих свойств крови в условиях ОС, вызванного многократным, а именно, трехкратным введением ЛПС, в достаточной степени не изучен, что и предопределило наш интерес к данной проблеме.

Цель данной работы – изучить эффект газотрансмиттеров (NO, H₂S) на прооксидантно-антиоксидантное состояние и кислородтранспортную функцию крови в условиях развития окислительного стресса, вызванного введением липополисахарида.

Методика

Эксперименты проводили на лабораторных крысах-самцах массой 200-250 г., которых содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище, при искусственном освещении: 12 (день) / 12 (ночь) часов. Животные случайным образом были разделены на 12 экспериментальных групп: контрольная группа (n=7) – вводили 0,9% раствор NaCl; в опытных группах 2 (n=9), 4–12 осуществляли введение ЛПС в дозе 5 мг/кг интраперитонеально трехкратно с интервалом 24 ч. Коррекцию состояния, индуцированного введением ЛПС, реализовывали с помощью исходного субстрата

синтеза NO – L-аргинина в дозе 100 мг/кг (группа 4, n=11), неселективного ингибитора NOC (L-NAME) в дозе 20 мг/кг (группа 5, n=7), селективного ингибитора индуцибельной NOC (AG) в дозе 100 мг/кг (группа 6, n=8), донора H₂S (NaHS) в дозе 5 мг/кг (группа 7, n=11), PAG, ингибитора цистатионин-γ-лиазы, в дозе 50 мг/кг (группа 8, n=11), а также комбинаций данных соединений: L-аргинин и L-NAME (группа 9, n=8), L-аргинин и AG (группа 10, n=7), NaHS и L-аргинин (группа 11, n=11), PAG и L-аргинин (группа 12, n=9). Животные группы 3 (n=12) получали только инъекцию NaHS. Инъекции указанными соединениями (в объеме 1 мл) осуществляли интраперитонеально трехкратно через 15 минут после введения ЛПС, предварительно растворив в 0,9% NaCl.

В условиях адекватной аналгезии через 12 ч после последней инъекции ЛПС осуществляли забор крови из правого предсердия, а также ткани сердца, печени, почек и легких. Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали в эритроцитарной массе и плазме крови по содержанию диеновых (ДК) и триеновых (ТК) конъюгатов, концентрации малонового диальдегида (МДА). Состояние антиоксидантной системы определяли по активности каталазы, содержанию восстановленного глутатиона, концентрации в плазме - токоферола, ретинола и церулоплазмина. Продукцию NO оценивали спектрофотометрически по суммарному содержанию нитрат/нитритов, концентрацию H₂S в плазме крови определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 670 нм. Изучение параметров КТФ крови в исследуемых образцах крови проводили на микроанализаторе Syntesis-15 «Instrumentation Laboratory» (США).

Полученные результаты обрабатывали с применением пакетов прикладных программ MS Excel и «Statistica». С учетом малых размеров выборки, а также отсутствия нормального распределения в группах, статистическую значимость результатов оценивали методом непараметрической статистики для независимых выборок – критерий Манна-Уитни. Результаты представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25–75%). Различия считали достоверными при уровне значимости (p<0,05).

Результаты и их обсуждение

Введение L-аргинина, AG, NaHS в условиях действия ЛПС сопровождается уменьшением активности свободнорадикальных

процессов – снижением концентрации ДК, ТК и МДА как в крови, так и в тканях сердца, печени, почек и легких; повышением активности каталазы, содержания восстановленного глутатиона, α -токоферола и ретинола в крови и тканях исследуемых органов; увеличением содержания церулоплазмينا в плазме крови. Схожая динамика наблюдается и у крыс после инъекции ЛПС, L-аргинина в комбинации с АГ, L-аргинина в сочетании с донором H_2S . Использование неселективного ингибитора NO-синтазы (L-NAME) существенно не меняет степень окислительных повреждений, вызванных действием ЛПС, и не усиливает антиоксидантный потенциал. Применение ингибитора синтеза H_2S (PAG), а также комбинация его с L-аргинином в некоторых тканях приводит к увеличению активности свободнорадикальных процессов. Так, применение PAG повышает в сердце и легких содержание ДК, ТК и МДА, в печени ТК, в почках МДА. Использование сочетанного введения PAG с L-аргинином характеризуется повышением в печени содержания ТК и МДА. Данный эффект H_2S , возможно, реализуется как непосредственно через его антиоксидантное действие, так и через вклад в функционирование L-аргинин-NO-системы и КТФ крови.

Введение L-аргинина, АГ, NaHS в условиях развития ОС, вызванного введением ЛПС, сопровождается изменением КТФ крови – увеличение SO_2 и снижение показателя $p50_{\text{реал}}$, что отражает повышение СГК и имеет значение для формирования кислородного обеспечения тканей, способствует уменьшению нарушения прооксидантно-антиоксидантного баланса. Применение L-NAME не приводит к существенным изменениям КТФ по сравнению с животными, получавшими лишь эндотоксин. При введении PAG наблюдается тенденция развития метаболического ацидоза и более существенный сдвиг КДО влево. L-аргинин, АГ и донор H_2S как отдельно, так и сочетано вызывает снижение суммарного содержания нитрат/нитритов и концентрации H_2S . Следует отметить в нашем исследовании парадоксальный факт: снижение концентрации H_2S в крови после введения NaHS. Возможно, это связано, с одной стороны, с краткосрочным повышением его содержания в организме, а с другой – с иницированием механизмов его утилизации при взаимодействии с NO (с образованием S-нитротииола), пероксинитритом (с образованием тионитрата) и окислением цистеина в цистеинсульфинат [4].

Таким образом, L-аргинин, АГ и NaHS как изолированно, так и сочетано уменьшают нарушения прооксидантно-антиоксидантного баланса, вызванные действием ЛПС. Введение же PAG как самостоятельно, так и в комбинации с L-аргинином характеризуется противоположным эффектом – снижает АОЗ и усиливает свободнорадикальное окисление. Газотрансмиттеры NO и H₂S оказывают влияние на кислородсвязывающие свойства крови, в частности повышают СГК. Модификация кислородсвязывающих свойств крови, осуществляемая через различные механизмы при участии NO и H₂S, имеет значение для кислородного обеспечения организма и механизмов формирования прооксидантно-антиоксидантного состояния при введении ЛПС.

Библиографический список

1. T. Tofas, D. Draganidis, Ch.K. Deli, K. Georgakouli, I.G. Fatouros, A.Z. Jamurtas. Exercise-Induced Regulation of Redox Status in Cardiovascular Diseases: The Role of Exercise Training and Detraining // Antioxidants (Basel). 2020. Vol. 9, № 1.
2. M. Védrine, C. Berthault, C. Leroux, M. Répérant-Ferter, Ch. Gitton, S. Barbey, P. Rainard, F. B. Gilbert, P. Germon. Sensing of Escherichia coli and LPS by mammary epithelial cells is modulated by O-antigen chain and CD14 // PLoS One. 2018. Vol. 13, № 8.
3. M. Zhang, R. Qiao, J. Hu. Engineering metal-organic frameworks (MOFs) for controlled delivery of physiological gaseous transmitters // Nanomaterials (Basel). 2020. Vol. 10, № 6.
4. K. R. Olson. Hydrogen sulfide as an oxygen sensor // Antioxidants and redox signaling. 2015. Vol. 22, № 2. P. 377-397.

УДК 616.36-008.6-002-092:612.014.464

М.Н. Ходосовский, В.В. Зинчук

УЧАСТИЕ ЭРИТРОПОЭТИНА В КОРРЕКЦИИ NO-СИНТАЗНОЙ ФУНКЦИИ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНИ

Аннотация. Изучен механизм защитного действия эритропоэтина при ишемии-реперфузии печени. Установлено,

что однократное введение эритропоэтина перед ишемией печени существенно снижает уровень продуктов перекисного окисления липидов, улучшает показатели антиоксидантной защиты и увеличивает суммарное содержание нитрат/нитритов в крови в конце реперфузионного периода. Ингибирование эндогенного синтеза монооксида азота с помощью L-NAME снижает защитный эффект эритропоэтина.

Ключевые слова: монооксид азота, эритропоэтин, реперфузия, печень, крысы.

M.N. Khodosovsky, V.V. Zinchuk

THE INVOLVEMENT OF ERYTHROPOIETIN IN IMPROVEMENT OF NO-SYNTASE FUNCTION DURING HEPATIC ISCHEMIA-REPERFUSION

Abstract. The mechanism of the protective action of erythropoietin in liver ischemia-reperfusion was studied. It has been established that a single administration of erythropoietin before liver ischemia significantly reduces the level of lipid peroxidation products, improves antioxidant protection and increases the total content of nitrate / nitrite in the blood at the end of the reperfusion period. Inhibition of endogenous nitrogen monoxide synthesis by L-NAME reduces the protective effect of erythropoietin.

Keywords: nitric oxide, erythropoietin, reperfusion, liver, rats.

Введение

В последние годы интенсивно разрабатываются новые способы preconditionирования, которые базируются на способности некоторых соединений запускать схожие с ишемическим preconditionированием механизмы адаптации к ишемии и последующей за ней реперфузии. Одним из таких соединений считают эритропоэтин (ЭПО). Известно, что гипоксия/ишемия – основной фактор повышения синтеза ЭПО в организме. Долгое время данный гликопротеин считали ответственным за механизмы долговременной адаптации к условиям гипоксии. В последние годы показано, что ЭПО обладает защитным эффектом при краткосрочном использовании на разных моделях ишемии/гипоксии органов [1, 2]. Выяснено, что рецепторы к ЭПО имеются в нервных

клетках, кардиомиоцитах, эпителии лёгких, эндотелии сосудов и др. [1]. Более того, некоторые из тканей способны синтезировать данный гликопротеин. Цитопротективный эффект краткосрочного использования ЭПО связывают со способностью этого гликопротеина ингибировать механизмы апоптоза, подавлять экспрессию провоспалительных цитокинов, активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), улучшать функцию эндотелия и микроциркуляцию в тканях [3, 4].

Цель исследования – выяснить вклад монооксида азота в механизм защитного действия эритропоэтина при ишемии-реперфузии печени (ИРП) у крыс.

Методика

Опыты выполнены на 34 взрослых белых крысах-самцах, массой 280-360 г, выдержанных в стандартных условиях вивария. Под комбинированным наркозом (тиопентал натрия – 30 мг/кг, в/б, калипсол – 100 мг/кг, в/м) ишемии печени вызывали наложением сосудистого зажима на *a. hepatica propria* и *v. portae* (маневр Прингла) в течение 30 минут, реперфузионный период длился 120 минут. В конце эксперимента осуществляли забор смешанной венозной крови из правого предсердия и тканей печени для оценки параметров прооксидантно-антиоксидантного и функционального состояния печени. Все оперативные вмешательства осуществляли в условиях адекватной анальгезии в соответствии с нормами, принятыми этической комиссией по гуманному обращению с животными Гродненского государственного медицинского университета.

Животных разделили на 4 группы: 1 группа (n=9) – контрольная; во 2 группе (n=8) моделировали ИРП; в 3 группе (n=9) за 30 мин перед ИРП крысам вводили рекомбинантный человеческий эритропоэтин альфа (ЭПО, INTAS, 1000 МЕ/кг), в 4-й группе (n=8) введение ЭПО комбинировали с неселективным ингибитором NO-синтазы – метиловым эфиром N^ω-нитро-L-аргинина (L-NAME, Sigma, 10 мг/кг, за 60 мин до ИРП). Изменение уровня монооксида азота нами оценивалось по суммарному содержанию нитрат/нитритов (NOx) в плазме крови спектрофотометрическим методом с использованием реактива Грисса.

Для восстановления нитратов в нитриты применяли металлический кадмий.

Изучали следующие показатели прооксидантно-антиоксидантного состояния: диеновые конъюгаты (ДК), малоновый диальдегид (МДА), основания Шиффа (ОШ), восстановленный глутатион (GSH), α -токоферол, ретинол и активность каталазы. Содержание ДК в биологическом материале определяли методом ультрафиолетовой спектрофотометрии при длине волны 233 нм, типичной для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов. Уровень МДА (ТБК-активных продуктов) оценивали по взаимодействию с 2'-тиобарбитуровой кислотой (ТБК), которая при нагревании в кислой среде приводит к образованию триметинового комплекса розового цвета. Содержание ОШ определяли по интенсивности флюоресценции хлороформного экстракта при длинах волн возбуждения и эмиссии 344 нм и 440 нм, соответственно. Концентрацию α -токоферола и ретинола изучали методом флюориметрического определения по интенсивности флюоресценции гексанового экстракта. В качестве стандарта использовались α -токоферол и ретинол фирмы "Sigma". Содержание GSH в биологическом материале определяли по методу, в основе которого лежит реакция взаимодействия SH-групп глутатиона с 5,5'-дителиобис(2-нитробензойной кислотой), способной поглощать свет при длине волны 412 нм. Каталазная активность в биологическом материале оценивалась спектрофотометрическим методом, основанном на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойко окрашенный комплекс.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента, критериев Вилкоксона или Манна-Уитни, в зависимости от нормальности распределения выборок. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что у крыс 2 группы ИРП приводила к росту ДК и ОШ в плазме смешанной венозной крови в конце экспериментов по отношению к контролю в 4,2 ($p < 0,001$) и в 8,7 ($p < 0,001$) раза, соответственно. При этом у животных 2 группы

понижалась концентрация α -токоферола и ретинола на 14,4% ($p<0,001$) и 30,4% ($p<0,001$), соответственно. Активность каталазы эритроцитов в конце реперфузионного периода у крыс 2 группы снижалась на 57,5% ($p<0,001$). Схожие изменения исследуемых параметров прооксидантно-антиоксидантного баланса имелись в печени в конце реперфузионного периода. Следует отметить, что у животных 2 экспериментальной группы наблюдалось понижение суммарного содержания NOx в крови на 49,6% ($p<0,05$) по отношению к контрольным крысам 1 группы.

В группе животных, получавших с ЭПО (3 группа) наблюдалось улучшение большинства исследуемых параметров. Так, уровень ДК и ОШ в эритроцитах по отношению к животным, которым препарат не вводили, понижался на 62,9% ($p<0,001$) и 39,2% ($p<0,001$) соответственно. Содержание ДК и ОШ в печени в конце реперфузии по отношению к крысам, у которых моделировали только ИРП, падало на 78,0% ($p<0,001$) и 73,9 ($p<0,001$) соответственно. Одновременно улучшались изучаемые параметры антиоксидантной системы в крови и тканях печени у крыс, получавших ЭПО, по отношению к животным 2 группы. Так, в печени в конце реперфузии уровни α -токоферола, ретинола и активность каталазы у животных 3 группы не отличались от контрольных, а содержание GSH эритроцитов повышалось на 20,7% ($p<0,05$) по отношению к контролю. Следует отметить, что у животных 3 группы наблюдалось повышение суммарного содержания NOx в крови по отношению к крысам 1 и 2 опытных групп. Результаты исследования указывают, что введение крысам ЭПО способствует улучшению прооксидантно-антиоксидантного баланса и NO-синтазной функции при ИРП.

Применение ЭПО в условиях ингибирования синтеза NO с помощью L-NAME (4 группа) ухудшало параметры прооксидантно-антиоксидантного состояния крови и печени после ишемии. Так, уровень ДК и ОШ в плазме крови в конце реперфузионного периода у животных, получавших ЭПО в комбинации с L-NAME, по отношению к группе, в которой при ИРП вводили только ЭПО, повышался на 43,6% ($p<0,05$) и 36,7% ($p<0,01$), соответственно. Содержание α -токоферола и ретинола в плазме крови на 120 минуте реперфузии у крыс, получавших ЭПО вместе с L-NAME, по отношению к группе, в которой при ИРП про-

водили инфузию только ЭПО, снижалось на 4,9% ($p<0,05$) и 17,0% ($p<0,01$), соответственно.

В условиях ингибирования NO-синтазной функции у крыс, получавших ЭПО при ИРП, понижалась также активность каталазы эритроцитов в смешанной венозной крови на 53,6% ($p<0,001$). Схожая динамика изменения показателей прооксидантно-антиоксидантного состояния имела в печени экспериментальных животных. Показано, что суммарное содержание нитрат/нитритов смешанной венозной крови у крыс при комбинированном использовании ЭПО и L-NAME снижалось на 63,7% ($p<0,001$) по отношению к животным, у которых ИРП моделировали только с ЭПО.

Вместе с тем следует отметить, что протективный эффект ЭПО при ИРП в условиях ингибирования NO-синтазной функции полностью не блокировался. Так, уровень ДК и ОШ у животных, получавших ЭПО в комбинации с L-NAME, в конце реперфузии в плазме крови был ниже, чем у крыс при моделировании только ИРП, на 32,2% ($p<0,01$) и 40,9% ($p<0,001$), соответственно. Содержание α -токоферола и ретинола в плазме крови на 120 минуте реперфузии у крыс, получавших ЭПО вместе с L-NAME, по отношению к группе, в которой выполняли только ИРП, было выше на 6,9% ($p<0,05$) и 10,5% ($p<0,01$), соответственно.

Таким образом, протективный эффект ЭПО при ИРП на показатели прооксидантно-антиоксидантного состояния в условиях ингибирования NO-синтазной функции снижается. Данный факт свидетельствует об участии газотрансмиттера NO в механизме защитного действия ЭПО при ИРП. Однако, учитывая, что протективный эффект ЭПО при ИРП в условиях ингибирования NO-синтазной функции полностью не блокируется, можно предположить наличие других механизмов влияния данного гликопротеина, способствующих коррекции окислительных повреждений при ишемии-реперфузии печени.

Библиографический список

1. Захаров, Ю. М. Неэритропоэтические функции эритропоэтина / Ю. М. Захаров // Росс. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. 2007. Т.93, № 6. С. 592- 608.

2. Ходосовский, М. Н. Влияние эритропоэтина на кислородтранспортную функцию крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние при ишемии-реперфузии печени / М. Н. Ходосовский, В. В. Зинчук // Росс. физиол. журнал им. И.М. Сеченова. 2014. Т. 100, № 5. С. 592-601.

3. Liu, Q. S. Erythropoietin pretreatment exerts anti-inflammatory effects in hepatic ischemia/reperfusion-injured rats via suppression of the TLR2/NF- κ B pathway / Q. S. Liu [et al.] // Transplant. Proc. 2015. Vol. 47, № 2. P. 283-289.

4. Meng, H. Erythropoietin activates Keap1-Nrf2/ARE pathway in rat brain after ischemia / Meng H. [et al.] // Int. J. Neurosci. 2014. Vol. 124, № 5. P. 362-368.

УДК. 612.1;591.11;577.353

Е.Л. Волкова, А.В. Муравьев, Н.В. Кислов, В.Л. Комлев

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗНЫХ СИГНАЛЬНЫХ КАСКАДОВ НА МОДЕЛИ МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИХ ОТВЕТОВ ЭРИТРОЦИТОВ

Аннотация. Целью настоящего исследования было изучение влияния активации/ингибирования элементов внутриклеточных сигнальных путей эритроцитов на эластичность их мембран и деформируемость клеток в целом. В опытах *in vitro* было продемонстрировано, что инкубация человеческих эритроцитов с препаратами, обладающими тирозинкиназной активностью, приводит к изменению эластичности мембран и деформируемости клеток в целом. При этом препараты–стимуляторы активности тирозинкиназ (ТПК) достоверно, на 12-19% ($p<0.05$) повышали деформируемость эритроцитов (ДЭ), тогда как ингибитор ТПК сунитиниб не повлиял достоверно на ДЭ.

Анализ роли звеньев аденилатциклазного сигнального каскада в изменениях эластичности мембран эритроцитов, свидетельствовал об их участие в ответе эритроцитов на стимулирование/ингибирование элементов этого сигнального пути, включая мембранные рецепторы, аденилатциклазу, цАМФ и

фосфодиэстеразы. На это указывало изменение индекса деформируемости и вязкости суспензии эритроцитов от 10 до 22% ($p < 0.05$). Таким образом, стимулирование двух сигнальных путей: аделатциклазного и тирозинкиназного в эритроцитах могут приводить к сходному эффекту: повышением деформируемости эритроцитов и приросту их кислородтранспортной функции.

Ключевые слова: эритроциты, деформируемость, сигнальные пути, аденилатциклаза, цАМФ, протеинкиназы

E.L. Volkova, A.V. Muravyov., N.V. Kislov, V.L. Komlev

MEMBRANE ELASTICITY ALTERATION OF THE RED BLOOD CELLS AS A MODEL FOR STUDYING THE MOLECULAR DRUG TARGET

Abstract. The aim of this study was to investigate the influence of the activation / inhibition of intracellular signaling pathways elements erythrocyte upon red blood cell (RBC) membrane elasticity and cell deformability. In *in vitro* experiments, it was shown that incubation of human erythrocytes with cancer chemotherapy drugs possessing tyrosine kinase activity, results in a change in overall elasticity of the membranes. At the same time drugs stimulators tyrosine kinase activity (TPK) significantly by 12-19% ($p < 0.05$) increased deformability of red blood cells (RBCD), while TPK inhibitor sunitinib did not significantly change RBCD. Analysis of the role of units of adenylyl cyclase (AC) signaling cascade in the membranes of red blood cells elasticity changes, evidenced about their involvement in the response to the stimulation/inhibition of this signaling pathway components, including membrane receptors, AC, cAMP and phosphodiesterases. This is indicated by the change of the index of deformability and erythrocyte suspension viscosity of 10 to 22% ($p < 0.05$). Thus, the stimulation of two signaling pathways: adelate cyclase and tyrosine kinase in erythrocytes can lead to a similar effect: an increase in the deformability of erythrocytes and an increase in their oxygen transport function.

Key words: erythrocyte, deformability, signaling pathways, adenylyl cyclase, cAMP, protein kinases

Введение

Известно, что активация внутриклеточных молекулярных сигнальных путей зрелых эритроцитов приводит к фосфорилированию ключевых белков мембраны. Это существенно влияет на эластичность мембран и деформируемость клеток в целом [1]. Одним из вероятных сигнальных каскадов может быть «аденилатциклаза - ц-АМФ» [2-4]. В этих условиях фосфорилирование белка полосы 4.1R приводит к диссоциации тройного комплекса (спектрин – полоса 4.1 – гликофорин C) и повышению эластичности мембраны [5]. При активации рецепторов имеющих в своем составе тирозиновые остатки (например, рецептор инсулина) активируются другие элементы сигнального каскада. Это кальций – кальмодулин – протеинкиназа C (ПКС) и фосфорилирование белка анкирина или полосы 3 с последующей диссоциацией комплекса «спектрин – анкирин – белок полосы 3». Это также сопровождается изменением пластичности мембран и деформируемости эритроцита [1, 6]. Для проверки этого предположения было организовано настоящее исследование.

Цель – исследовать участие разных элементов молекулярных сигнальных путей, связанных изменением и деформируемости эритроцитов (ДЕ).

Материал и методы

У здоровых лиц ($n=24$), брали цельную кровь (в объеме 9 мл) венопункцией в вакуумные пробирки с ЭДТА. Все испытуемые дали добровольное информированное согласие на взятие крови. Эритроциты трижды отмывали в изотоническом растворе NaCl, и ресуспендировали в растворе Рингера (pH 7.4 и осмолярностью 300 мОсм/л) до гематокрита 40%. Для анализа влияния ряда препаратов, имеющих тирозинкиназную активность на ДЕ, клетки инкубировали в течение 30 мин при 37°C с каждым из перечисленных соединений: – с цисплатином: стимулятором тирозинкиназ (цис-диамминхлорплатина, $0.3 \cdot 10^{-6}$ М); – с сунитинибом: ингибитором рецепторов тирозинкиназ (10^{-6} М); – с инсулином (10^{-7} М).

Для исследования влияния на ДЕ препаратов, активирующих аденилатциклазный сигнальный путь, клетки инкубировали в течение 30 мин при 37°C в среде, содержащей:

- 1) простагландин E_1 , в качестве стимулятора аденилатциклазы (10^{-7} М);
- 2) специфический стимулятор активности аденилатциклазы – форсколин (10^{-5} М);
- 3) проникающий аналог циклического АМФ – дБ-цАМФ ($0.5 \cdot 10^{-4}$ М);
- 4) неселективный ингибитор фосфодиэстераз (ФДЭ) – изобутилметилксантин (ИБМК, 10^{-4} М);

В каждом опыте контрольной пробой служила суспензия эритроцитов, подвергавшаяся аналогичной по продолжительности инкубации при 37°C в буферном растворе без добавления препаратов. Исходные или концентрированные растворы препаратов готовили в DMSO, этиловом спирте или в воде. Опыты были выполнены в течение 4 часов после взятия крови. Препараты были получены от фирмы Sigma Aldrich (США).

Деформируемость эритроцитов исследовали двумя методами:

- 1) Регистрировали вязкость суспензий эритроцитов (BC) с гематокритом 40% (Hct) на капиллярном вискозиметре при высоком напряжении сдвига ($1.8 \text{ Н} \cdot \text{м}^{-2}$). Все измерения выполнены при комнатной температуре ($20.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$, поддерживалась путем кондиционирования воздуха).

- 2) Для оценки мембранной вязкоэластичности эритроцитов определяли индекс их удлинения эритроцитов (ИУЭ) в проточной микрокамере, где создавали постоянное течение путем приложения напряжения сдвига $0.98 \text{ Н} \cdot \text{м}^{-2}$. В микрокамеру, заполненную суспензией эритроцитов (Hct=0.5%). Суспензионной средой для клеток был раствор Рингера с добавлением декстрана-200, (10% ХФЕС-стерил, Fresenius Kabi, Германия) в соотношении 30% объема пробы, а 70% - раствор Рингера. Вязкость этой жидкости составила $1.30 \text{ мПа} \cdot \text{с}$. В микрокамеру подавали давление, которое вытягивало клетки, прикрепленные к дну камеры. На основе измерения длины (L) и ширины (W) вытянутых поток клеток рассчитывали индекс удлинения эритроцитов как показатель их деформируемости $ИУЭ = L/W$, автоматически, на основе специально написанной компьютерной программы. Гематокрит приготовленных суспензий эритроцитов для вискозиметрии контролировали с помощью микрогематокритной цен-

трифуги (Elmi CM-70). Цифровой материал обработан статистически с определением средней величины (M) и статистической ошибки средней (m). Достоверность различий в исследуемых группах определяли с помощью t -критерия Стьюдента. За уровень статистически значимых, принимали изменения при $p < 0,05$. В тексте и таблицах и приведены средние величины (M) и величины статистической ошибки средней (m).

Результаты и обсуждение

1. *Изменение эластичности и деформируемости эритроцитов при их инкубации с препаратами, лигандами мембранных рецепторов, ассоциированных с аденилатциклазным сигнальным путем.* Согласно данным литературы на плазматической мембране экспонированы рецепторы [2, 3], ассоциированные с сигнальным путем, включающим G-белок, аденилатциклазу (АЦ), циклический аденозинмонофосфат (цАМФ) и протеинкиназу А (ПКА) [7]. В таблице 1 приведены данные по мембранной эластичности эритроцитов после их инкубации с простагландином E_1 . Препарат заметно снижал вязкость суспензии эритроцитов (13%). Эластичность эритроцитов возрастала после инкубации с ПГЕ₁ на 19% ($p < 0,05$).

Таблица 1

Изменение параметров мембранной эластичности и деформируемости эритроцитов при инкубации с препаратами, лигандами мембранных рецепторов, ассоциированных с аденилатциклазным сигнальным путем ($M \pm m$, $n=24$)

Показатели	Контроль	ПГЕ ₁
ВС, мПас	3,28±0,11	2,85±0,11 *
ИУЭ, отн. ед.	2,10±0,01	2,49±0,02*

Примечание. ВС – вязкость суспензии эритроцитов ($\eta_{ст}=40\%$);

ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; * - различия достоверны при $p < 0,05$.

Поскольку известно, что простагландин E_1 стимулируют аденилатциклазу (АЦ) [8], то было интересно сравнить описанные выше микрореологические эффекты с прямым активированием АЦ при помощи форсколина [9]. Анализ полученных результатов

показал, что инкубация эритроцитов с форсколином приводила к умеренному снижению вязкости суспензии эритроцитов на 10% ($p<0,05$; табл. 2). Деформируемость эритроцитов достоверно увеличивалась, и ее прирост составил 16% по сравнению с уровнем этого показателя в контроле (табл. 2). Введение в среду инкубации клеток стабильного аналога цАМФ – дБ-цАМФ сопровождалось выраженным снижением ВС, на 14% ($p<0,05$) и на 22% приростом индекса удлинения клеток (табл. 3).

Известно, что при ингибировании активности ФДЭ происходит накопление цАМФ в клетках [10]. Следовательно, можно было ожидать позитивного изменения мембранной эластичности эритроцитов, в условиях прироста цАМФ из-за угнетения активности ФДЭ. Действительно, неселективный ингибитор ФДЭ, изобутилметилксантин оказал положительное влияние на эластичность эритроцитов, ее прирост составил 14%.

Таблица 2

Изменение параметров мембранной эластичности и деформируемости эритроцитов при инкубации с препаратами, стимуляторами аденилатциклазного сигнального пути ($M \pm m$, $n=24$)

Показатели	Контроль	Форсколин	дБ-цАМФ
ВС, мПас	$3,32 \pm 0,11$	$2,95 \pm 0,13^*$	$2,84 \pm 0,12^*$
ИУЭ, отн. ед.	$2,09 \pm 0,02$	$2,42 \pm 0,02^*$	$2,55 \pm 0,01^*$

Примечание. ВС – вязкость суспензии эритроцитов ($\text{Hct}=40\%$);

ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; * - различия достоверны при $p<0.05$.

2. *Изменение мембранной эластичности эритроцитов под влиянием препаратов, влияющих на активность тирозиновых протеинкиназ (ТПК).* При инкубации эритроцитов препаратами химиотерапии, влияющими на активности тирозиновых протеинкиназ (ТПК), были получены заметные изменения пластичности клеток. Эти эффекты наблюдались при добавлении в среду инкубации эритроцитов стимуляторов активности ТПК. Так цисплатин повышали показатель деформируемости на 19% ($p<0,05$). Под-

тверждение положительных сдвигов эластичности эритроцитов служат более низкие величины вязкости их суспензий, которые на 11% ($p<0,05$) отличались от данных контроля (Табл. 3).

Таблица 3

Изменение микрореологических характеристик эритроцитов *in vitro* под влиянием препаратов химиотерапии с тирозинкиназной активностью ($M\pm m$; $n=24$)

Показатели	Контроль	Цисплатин	Сунитиниб	Инсулин
ВС, мПас	3,39 $\pm$ 0,16	3,02 $\pm$ 0,12	3,56 $\pm$ 0,17*	3,05 $\pm$ 0,08*
ИУЭ, отн. ед.	2,05 $\pm$ 0,02	2,44 $\pm$ 0,02	1,97 $\pm$ 0,03	2,39 $\pm$ 0,03*

Примечание. ВС – вязкость суспензии эритроцитов ($\eta_{ст}=40\%$); ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; * – различия достоверны при $p<0,05$.

Сунитиниб, ингибитор разных рецепторных ТПК, не влиял существенно на микрореологию эритроцитов. Индекс удлинения эритроцитов снизился всего на 4% (табл. 1), а прирост вязкости суспензии был равен 5% ($p<0,05$). При инкубации с инсулином ВС снизилась на 10% ($p<0,05$). Тогда как ИУЭ возрос на 16% (Табл. 3; $p<0,05$).

Закключение

Полученные в нашем исследовании данные свидетельствуют о том, что изменение эластичности мембран эритроцитов могут происходить при активации двух сигнальных каскадов: 1) это система «аденилатциклаза – цАМФ – PKA» и 2) сигнальный каскад с участием тирозиновых протеинкиназ. При стимулировании элементов этих двух молекулярных сигнальных путей были получены сходные количественные изменения мембранной эластичности эритроцитов. Начало другого сигнального пути, ассоциированного с изменением эластичности мембран и деформируемости эритроцитов, связано с активацией рецепторов по тирозиновым остаткам (например, инсулина).

Таким образом, стимулирование двух сигнальных путей: аделатциклазного и тирозинкиназного в эритроцитах могут приводить к сходному эффекту – *изменению эластичности мембран*, за счет диссоциации белков цитоскелета и инте-

гальных белков мембраны. В конечном итоге это сопровождается повышением деформируемости эритроцитов в целом и более эффективным выполнением их кислородтранспортной функции.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и БРФФИ в рамках научного проекта №20-515-00019/20-А

Библиографический список

1. Mohandas N., Chasis J., Shohet S. 1983. The influence of membrane skeleton on red cell deformability, membrane material properties. *Semin Hematol.* 20. 225–242.
2. Tuvia S., Moses A., Gulayev N., Levin S., Korenstein R. 1999. Beta-adrenergic agonists regulate cell membrane fluctuations of human erythrocytes. *J. Physiol.* 516. 781–787.
3. Horga J.F., Gisbert J., De Agustin J.C. 2000. A Beta-2-Adrenergic Receptor Activates Adenylate Cyclase in Human Erythrocyte Membranes at Physiological Calcium Plasma Concentrations, *Blood Cells. Molecules, and Diseases*, 26. 223–228.
4. Adderley S.P., Thuet K.M., Sridharan M., Bowles E.A., Stephenson A.H., Ellsworth M.L., Sprague R.S. 2011. Identification of cytosolic phosphodiesterases in the erythrocyte: a possible role for PDE5. *Med Sci Monit.* 17. CR241–247.
5. Mohandas N., Gallagher G. 2008. Red cell membrane: Past, present, and future. *Blood.* 112. 3939–3948.
6. Minetti G., Ciana A., C. Balduini. 2004. Differential sorting of tyrosine kinases and phosphotyrosine phosphatases acting on band 3 during vesiculation of human erythrocytes, *Biochem. J.* 377. 489–497.
7. Теппермен, Дж., Х. Теппермен. 1989. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. М. : Мир. 653с.
8. Adderley S.P., Sridharan M., Bowles E.A., Stephenson A.H., Ellsworth M.L., Sprague R.S. 2010. Protein kinases A and C regulate receptor-mediated increases in cAMP in rabbit erythrocytes. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 298. H587. doi: 10.1152/ajpheart.00975.2009.
9. Morris S.A., Bilezikian J.P. 1983. Evidence that forskolin activates turkey erythrocyte adenylate cyclase through a noncatalytic site. *Arch Biochem Biophys.* 220. 628–636.

10. Adderley S.P., Dufaux E.A., Sridharan M., Bowles E.A., Hanson M.S., Stephenson A.H., Ellsworth M.L., Sprague R.S. 2009. Ilprost- and isoproterenol-induced increases in cAMP are regulated by different phosphodiesterases in erythrocytes of both rabbits and humans. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 296. H1617-624.

УДК 576.54

*М.Ю. Скоркина, Т.С. Шевченко,
А.С. Зеленцова, А.С. Тараненко*

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОЙ АТФ НА СВОЙСТВА КЛЕТОЧНОЙ ПОВЕРХНОСТИ ГРАНУЛОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Аннотация. Под влиянием экзогенной АТФ жесткость и заряд поверхности гранулоцитов снизились соответственно на 71,4% ($p<0,05$) и 43% ($p<0,05$), сила адгезии между эритроцитом и лейкоцитом и процент мигрировавших гранулоцитов увеличились по сравнению с контролем. Полученные экспериментальные данные имеют значение в изучении механизмов межклеточных взаимодействий в микроциркуляторном русле при развитии лейкоза.

Ключевые слова: гранулоциты, модуль Юнга, потенциал поверхности, адгезивные свойства биомембран.

*М.Yu. Skorkina, T.S. Shevchenko,
A.S. Zelentsova, A.S. Taranenko*

EFFECT EXOGENOUS ATP THE PROPERTIES OF THE CELL SURFACE OF GRANULOCYTES IN THE PATIENTS WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKAEMIA

Abstract. Under influence of exogenous ATP, the stiffness and charge of the granulocytes surface were reduced according to the 74.4 % ($p<0.05$) and 43% ($p<0.05$), the adhesion force between erythrocyte and granulocyte and percentage of the migration granulo-

cytes was increased as compared to the control. Obtained data are important in studying the mechanisms of intercellular interaction in the microvasculature during the development of leukaemia.

Keywords: granulocytes, Young' module, the surface potential, adhesive properties of biomembrane.

Введение

В микроциркуляторном русле гранулоциты функционируют в условиях механического «стресса» – силового воздействия со стороны смещающихся слоев движущейся плазмы. Известно, что в ответ на механический «стресс», эритроцитами и клетками эндотелия, в межклеточное пространство экскретируются молекулы АТФ, которые выступают ключевыми участниками межклеточных взаимодействий и регуляторами иммунной активности лейкоцитов, посредством активации пуринаргических рецепторов, локализованных на мембранах клеток [1]. Установлено, что пуринаргические рецепторы семейства P2X, открытие которых запускает молекула АТФ, участвуют в высвобождении провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-1 β [2]. Подтипы рецепторов P2X семейства, в частности P2X7, играют существенную роль в организации воспаления и функционировании раковых клеток [3]. В этой связи, актуальным является изучение свойств мембран гранулоцитов при развитии острых лейкозов, которые характеризуются циркуляцией в русле лейкемических клонов клеток с измененными свойствами клеточных мембран [4].

Целью работы явилось – изучить свойства (механические, адгезивные и электрические) гранулоцитов больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) при стимуляции элементов пуринаргических сигнальных путей на модели экзогенной нагрузки с АТФ *in vitro*.

Методика

В эксперимент отбирали кровь больных ОЛЛ (n=20) в возрасте от 25 до 45 лет (11 женщин, 9 мужчин), поступивших на лечение в гематологическое отделение областной клинической больницы г. Белгорода. Постановку диагноза и взятие крови осуществляли при непосредственном участии врачей клиници-

стов. Больным был поведен стандартный курс химиотерапии, бластные формы в периферической крови отсутствовали. При проведении работы были соблюдены требования Хельсинской декларации, получено предварительное информированное согласие участников экспериментов соответствии с рекомендациям [136]. Образцы крови собирали в вакуумные пробирки Vacuette K3E (Greiner Bio-One, Австрия), с сухим напылением ЭДТА К₃ в концентрации 2,0 мг на 1 мл крови. Суспензию гранулоцитов получали путем центрифугирования цельной крови при 1500 об./мин в течение 15 мин. Клетки отбирали и ресуспендировали в культуральной среде RPMI 1640 (ПанЭко, Россия). Каждую пробу делили на две части – контрольную и опытную. В опытных пробах моделировали экзогенную нагрузку с АТФ *in vitro*, добавляя 100,0 μ M аденозин-5-трифосфат динатриевая соль тригидрат (АТФ- $\text{Na}_2\text{x3H}_2\text{O}$) (Sigma) к суспензии гранулоцитов. Инкубацию с препаратом проводили в течение 15 мин при 37°C. Контрольные пробы включали лейкоцитарную суспензию в среде RPMI 1640 без добавления препарата. Инкубацию всех проб проводили в течение 15 мин. при 37°C.

Свойства гранулоцитов изучали с использованием метода атомно-силовой микроскопии. Упруго-эластические свойства плазмалеммы гранулоцитов оценивали по числовым данным модуля Юнга. Электрические свойства мембраны гранулоцитов оценивали, выполняя измерения потенциала поверхности (ПП) в режиме зонда Кельвина. Измерение сил межклеточной адгезии выполнено на АСМ в режиме силовой спектроскопии. Конструировали биосенсорный чип, изготовленный на основе нативного эритроцита и типлесса CSG11 (USA) согласно способу, изложенному в работе [5]. Миграционную активность гранулоцитов изучали в прямом капиллярном тесте. Предварительно проводили оценку жизнеспособности клеток, используя счетчик и анализатор жизнеспособности клеток Countress II Automated Cell Counter (Thermo, Life Technologies, USA, 2019). Для теста использовали пробы с учетом жизнеспособности клеток не менее 95%.

Результаты экспериментальных исследований обрабатывали методами вариационной статистики. Достоверность различий между контрольными и опытными пробами определяли с

использованием t критерия Стьюдента при $p < 0,05$ в случае нормального распределения признака и U-критерия Манна-Уитни при $p < 0,05$ для непараметрических данных. В работе приведены средние величины (M) и величины статистической ошибки средней (m).

Результаты и обсуждение

В условиях экзогенной нагрузки с АТФ жесткость гранулоцитов снизилась на 71,4 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (таблица).

Таблица
Функциональные свойства гранулоцитов больных острым лимфобластным лейкозом

Параметр	Контроль (n = 400)	Опыт (n = 400)
Модуль Юнга гранулоцитов, мПа	$2,441 \pm 0,056$	$0,699 \pm 0,015^*$
Сила адгезии «эритроцит-гранулоцит», нН	$52,8 \pm 1,3$	$184,5 \pm 9,8^{**}$
Потенциал поверхности лейкоцитов, мВ	$-21,49 \pm 1,19$	$-37,74 \pm 1,14^*$
% мигрировавших гранулоцитов	$8,9 \pm 0,5$	$37,3 \pm 1,2^*$

Примечание: n – число просканированных клеток, * статистически значимые различия между показателями по t-критерию Стьюдента ($p < 0,05$); **статистически значимые различия между показателями по U-критерию Манна-Уитни ($p < 0,05$).

Сила адгезии между эритроцитом и гранулоцитом в опытной группе возросла в 3,5 раза, при этом заряд клеточной поверхности стал более отрицательным и снизился на 43% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Существенное изменение биофизических свойств плазмалеммы отразилось на их миграционной активности. Согласно данным таблицы процент мигрировавших гранулоцитов в условиях экзогенной нагрузки с АТФ увеличился на 76,14 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Полученные результаты согласуются с данными литературы, согласно которым внеклеточная молекула АТФ является мощным хемотаксическим стимулом для гранулоцитов, запускает изменение свойств плазмалеммы, что в конечном итоге отражается на реа-

лизации воспалительных реакций в организме. Учитывая, что микрореологические свойства клетки контролируются цитоскелетом, установленное в эксперименте снижение жесткости клеточной поверхности гранулоцитов в условиях экзогенной нагрузки с АТФ у больных ОЛЛ, указывает на реализацию сигнального каскада с участием ионов Ca^{2+} . Согласно данным литературы, активация пуриnergических рецепторов способствует разборке полимеризованного актина [6] и снижению концентрации актин сшивающих белков [7]. Имеются данные о том, что внеклеточная АТФ регулирует функцию селектина и миграцию нейтрофилов посредством P2X7 рецептора [8]. В литературе представлены данные об усилении хемотаксиса нейтрофилов под влиянием внеклеточной АТФ посредством активации, опосредованной P2Y2 рецептором, передающим сигнал на mTOR сигнальный путь на переднем крае клетки [9]. Отмечается, что нейтрофильные эктонуклеотидазы гидролизуют АТФ до аденозина, который, через рецепторы A3, также способствует миграции клеток. Хемотаксис нейтрофилов требует возбуждающих сигналов на лидирующем крае клетки и ингибирующих сигналов в задней части. Рецепторы P2Y2, а также A3-рецепторы, вносят вклад в возбуждающие сигналы спереди, в то время как аденозин, воздействуя на A2A-рецепторы, вносит вклад в ингибирующий сигнал в задней части клетки [10]. С точки зрения микроциркуляции снижение жесткости поверхности гранулоцитов будет способствовать усилению миграционной активности клетки, так как им легче деформироваться в мелких сосудах.

Таким образом, при стимуляции пуриnergического сигнального пути (*in vitro*), в смоделированном нагрузочном тесте с экзогенной АТФ у больных ОЛЛ, установлено снижение жесткости и потенциала поверхности плазмалеммы, усиление адгезивных свойств и миграционной активности гранулоцитов. Выявленные эффекты указывают на ведущую роль молекулы АТФ в механизмах сигнальной трансдукции между клетками крови в микроциркуляторном русле. Установленное в исследовании увеличение адгезивных свойств клеточной поверхности гранулоцитов, параллельно с усилением их миграционной активности под влиянием молекулы АТФ, могут способствовать развитию воспаления в сосудистой стенке.

Библиографический список

1. Sprague R.S., Stephenson A.H., Ellsworth M.L. Red not dead: signaling in and from erythrocyte // *Endocrinol. Metab. Trends.* – 2007. – Vol. 18. P. 350-355.
2. North R.A. P2X receptors // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* – 2016. – Vol. 37, No. 1700. P. pii 20150427.
3. Di Virgilio F., Adinolfi E. Extracellular purines, purinergic receptors and tumor growth // *Oncogene.* – 2017. – Vol. 36. P. 293-303.
4. Lam A.W., Rosenbluth M.J., Fletcher D.A. // *Blood.* 2007. V. 109, No. 8. P. 3505–3508.
5. Скоркина М.Ю., Шамрай Е.А., Сладкова Е.А. // *Клеточные технологии в биологии и медицине.* 2017. № 4. С. 213–215.
6. Goldman N., Chandler-Militello D., Langevin H., Nedergaard M., Takano T. Purine receptor mediated actin cytoskeleton remodeling of human fibroblasts // *Cell Calcium.* – 2013. – Vol. 53, No. 4. P. 297-301.
7. Yap B., Kamm R.D. Cytoskeletal remodeling and cellular activation during reformation of neutrophils into narrow channels // *J Appl Physiol.* – 2005. – Vol. 99. P. 2323-2330.
8. Ley K., Laudanna C., Cynulsky M.I., Noursharg S., Getting to the site of inflammation the leukocyte adhesion cascade updated // *Nat Rev Immunol.* – 2007. – Vol. 7. P. 678-689.
9. Bao Y., Ledderose C., Graf A.F., Brix B., Birsak T., Lee A. mTOR and differential activation of mitochondria orchestrate neutrophil chemotaxis // *J Cell Biol.* – 2015. – Vol. 210. P. 1153-1164.
10. Bao Y., Ledderose C., Seier T., Graft A.F., Brix. B., Chang E., Junger W.C. Mitochondria regulate neutrophil activation by generating ATP for autocrine purinergic signaling // *The J. of Biological chemistry.* – 2014. – Vol. 289, No. 39. P. 26794–26803.

*Муравьев А.В., Тихомирова И.А., Билецкая Е.С., Зинчук В.В.,
Остроумов Р.С., Михайлов П.В., Петроченко Е.П.*

**АНАЛИЗ РОЛИ ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ
В ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ ТРАНСПОРТА
КИСЛОРОДА КРОВЬЮ В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ
КИСЛОРОДНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ОРГАНИЗМА**

Аннотация. Целью данного исследования было изучение микрореологических ответов эритроцитов на действие газотрансммиттеров (ГТ): оксида азота (NO) и сероводорода (H_2S) у лиц с разным уровнем максимального потребления кислорода (МПК) и имеющих разные гемореологические профили. **Методика.** На основе определения МПК/кг при нагрузочном тестировании было выделено две группы наблюдений: с умеренным уровнем МПК/кг (40 до 50 мл/кг/мин – группа 1) и высоким – 51-65 мл/кг/мин - группа 2. У всех испытуемых регистрировали гемореологический профиль – 9 основных реологических характеристик крови и эритроцитов, полностью определяющих ее текучесть и транспортный потенциал. Для исследования роли ГТ отмытые эритроциты инкубировали с донорами NO и H_2S (нитропруссидом натрия, НПН, 100 мкМ и гидросульфидом натрия, NaHS, 100 мкМ), а также с L-аргинином (100 мкМ) и регистрировали микрореологические характеристики клеток, их деформируемость (ДЭ) и агрегацию (АЭ). **Результаты.** Разница МПК/кг между группами достигала 19% ($p < 0,05$) и у лиц группы 2 с более высоким обеспечением организма наблюдали более эффективную текучесть крови и на 8% более высокий кислородтранспортный потенциал. Было найдено, что ДЭ положительно коррелировала с МПК. В свою очередь, доноры ГД повышали деформируемость эритроцитов и выражено снижали их агрегацию. При этом у лиц второй группы изменения микрореологии были более существенными.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о положительном влиянии NO и H_2S на микрореологические свой-

ства эритроцитов. При этом корреляции ДЭ с МПК, то можно свидетельствовать о том, что положительные ответы на доноры ГТ могут вносить вклад в повышение эффективности капиллярной перфузии и обеспечение тканей кислородом. У лиц с более высоким обеспечением организма кислородом *in vitro* чувствительность к донорам ГТ заметно выше.

Ключевые слова: максимальное потребление кислорода, гемореологический профиль, оксид азота, сероводород, газотрансмиттеры

Muravyov A.V., Tikhomirova I.A., Biletskaya E.S., Zinchuk V.V., Ostroumov R.S., Mikhailov P.V., Petrochenko E.P.

ANALYSIS OF THE ROLE OF GAS TRANSMITTERS IN THE HEMORHEOLOGICAL MECHANISMS OF OXYGEN TRANSPORT BY BLOOD UNDER DIFFERENT OXYGEN SUPPLY CONDITIONS OF THE BODY

Abstract. The aim of this study was to study the microrheological responses of erythrocytes to the action of gas transmitters (GT): nitric oxide (NO) and hydrogen sulfide (H₂S) in individuals with different levels of maximum oxygen consumption (MOC) and having different hemorheological profiles. **Methods.** Based on the determination of MIC / kg during stress testing, two groups of observations were identified: with a moderate level of MIC/kg (40 to 50 ml/kg/min - group 1) and high - 51-65 ml/kg/min - group 2. all subjects recorded a hemorheological profile - 9 main rheological characteristics of blood and erythrocytes, which completely determine its fluidity and transport potential. To study the role of HT, washed erythrocytes were incubated with NO and H₂S donors (sodium nitroprusside, NPN, 100 µM and sodium hydrosulfide, NaHS, 100 µM), as well as with L-arginine (100 µM), and the microrheological characteristics of cells, their deformability (DE) and aggregation (AE). **Results.** The difference in BMD / kg between the groups reached 19% ($p < 0.05$), and in the individuals of group 2 with a higher supply of the body, a more efficient blood flow and an 8% higher oxygen transport potential were observed. DE was found to be positively correlated with BMD. In turn, HD donors increased the deformability of erythrocytes and a pronounced decrease in their aggregation. At the same time, in the persons of the second group, changes in microrheology

were more significant. **Conclusion.** The data obtained indicate a positive effect of NO and H₂S on the microrheological properties of erythrocytes. At the same time, the correlation of DE with BMD, then it can be evidence that positive responses to HT donors can contribute to an increase in the efficiency of capillary perfusion and the provision of tissues with oxygen. Individuals with a higher supply of oxygen to the body in vitro have a significantly higher sensitivity to HT donors.

Key words: maximum oxygen consumption, hemorheological profile, nitric oxide, hydrogen sulfide, gasotransmitters

Введение

Для доставки в тканевые микрорайоны кислорода и субстратов окисления большое значение имеет оптимизация объемного кровотока [1]. При этом его адаптивные изменения зависят не только от сосудистого компонента, но и от вязкости крови. Величина последней, на уровне микроциркуляции, сильно зависит не только от гематокрита и вязкости плазмы, но и от микрореологических свойств эритроцитов, от их деформируемости и агрегации [2]. Весь этот комплекс реологических факторов крови формирует характерный гемореологический профиль, тесно связанный с ее кислородтранспортным потенциалом. При этом известно, что микрореологические характеристики эритроцитов могут изменяться под влиянием сигнальных молекул и в том числе, при воздействии газовых медиаторов или газотрансмиттеров (NO, CO и H₂S) [3, 4].

Целью данного исследования было изучение роли газотрансмиттеров (NO и H₂S) у лиц с разным обеспечением организма кислородом.

Материал и методы исследования

Для решения поставленных задач в данном исследовании были сформированы две группы наблюдений (общее число испытуемых было 44 и в каждой группе по 22 испытуемых). Критерием отнесения к конкретной группе является величина максимального потребления кислорода (МПК). Была выделена первая группа (группа 1) с умеренной величиной МПК/кг от 40 до 50 мл/кг/мин, вторая группа – 51-65 мл/кг/мин (группа 2). Величину МПК определяли при нагрузочном тестировании на вело-

эргометре Monark 928 E с помощью метабологафа «Спиrolан-м» (модель ПТС-14П-01, Россия).

Образцы цельной крови (9 мл) получали венопункцией в вакуумные пробирки (вакутайнеры с EDTA). Исследование было одобрено местным этическим комитетом университета и было получено информированное согласие всех субъектов. Эритроциты отделяли от плазмы центрифугированием (15 мин, 3000 об/мин), трижды отмывали в изотоническом растворе NaCl. Суспензию эритроцитов делили на несколько аликвот и клетки инкубировали при 37°C в течение 30 мин с каждым из перечисленных ниже соединений:

- 1) с донором NO – нитропропруссидом натрия (НПН, в концентрациях 100 мкМ);
- 2) с субстратом образования NO, L-аргинином (100 мкМ);
- 3) с донором H₂S – гидросульфидом натрия (NaHS, в концентрациях 100 мкМ);
- 4) В каждом опыте в качестве контроля использовали суспензию эритроцитов, инкубируемых в течение 30 мин при 37°C в буферном растворе без добавления указанных выше препаратов.

Регистрировали параметры гемореологического профиля: вязкость крови при высоких и низких скоростях сдвига, вязкость плазмы, с помощью ротационного вискозиметра Брукфилда. Гематокрит (Hct) определяли с помощью гематокритной центрифуги (Elmi CM-70). Реологическую эффективность транспорта кислорода оценивали отношением гематокрита/вязкость (Hct/ η).

В опытах с исследованием агрегации эритроцитов (АЭ, агрегометр Myrenne M1) , для ее стимулирования, добавляли к изотоническому раствору Рингера декстран-200 (10% ХАЕС-стерил, *Fresenius Kabi*, Германия) в соотношении объемов 7:3. Для оценки деформируемости эритроцитов (ДЭ) определяли индекс их удлинения (ИУЭ) в проточной микрокамере [4]. Регистрировали индекс АЭ и ДЭ после инкубации с препаратами и сравнивали с их с данными контрольных опытов (инкубация эритроцитов без препаратов). Весь цифровой материал обработан статистически с определением выборочной средней величины

ны (М) и статистической ошибки средней (m). Значимость различий в исследуемых группах определяли с помощью t-критерия Стьюдента. За уровень статистически значимых принимали изменения при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

В среднем в группе 1 величина МПК/кг составила $44,8 \pm 1,74$ млО₂/кг/мин. Тогда как у лиц группы 2 эта характеристика была равной $53,1 \pm 2,4$ млО₂/кг/мин. Разница между группами достигала 19% ($p < 0,05$). Анализ гемореологических профилей показал, что имелись заметные различия между группами (рис. 1). Так вязкость крови (ВК) у лиц с более высоким МПК была на 7-14% ($p < 0,05$), чем в группе 1. Это обусловлено более низкой вязкостью плазмы (ВП), гематокритом и АЭ (на 5- 18%; рис. 1) и на 8% ($p < 0,05$) большей ДЭ.

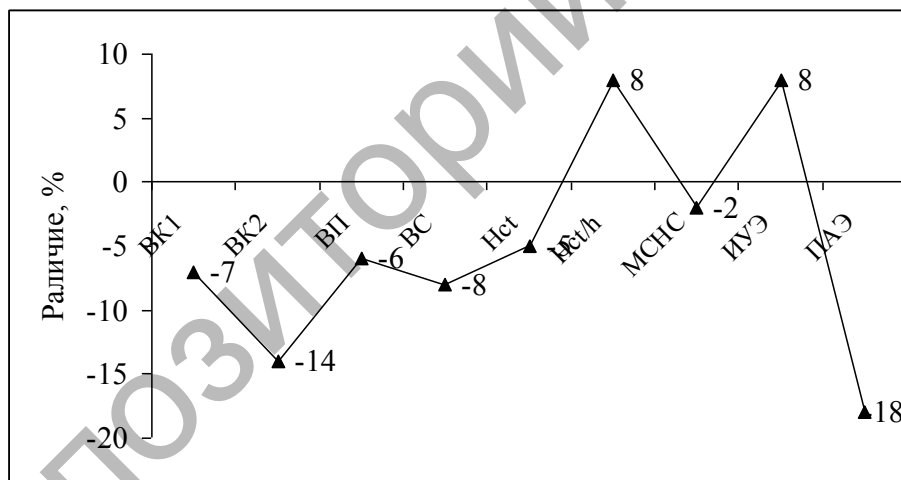
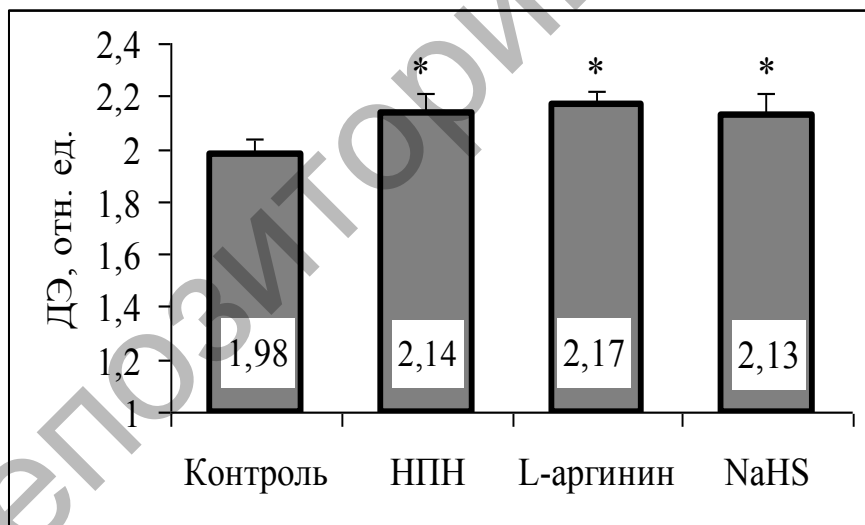


Рис. 1. Гемореологические профили лиц с умеренным уровнем МПК (нулевая линия, группа 1) и испытуемых группы 2 (различия по сравнению с данными группы 1 в процентах).

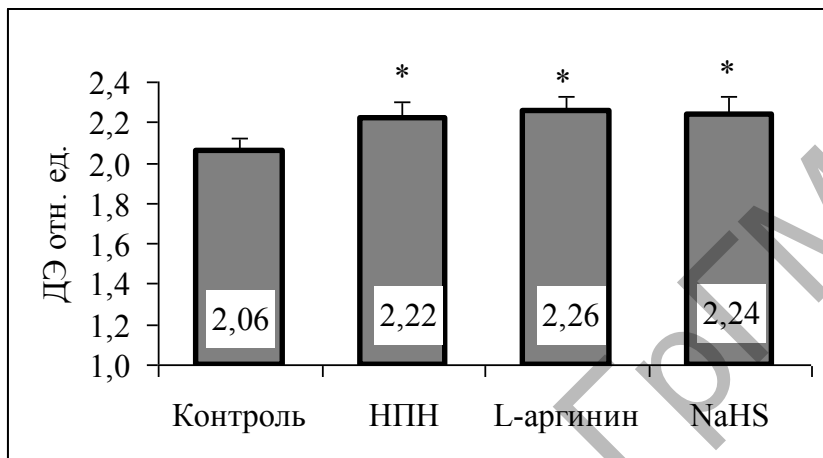
Обозначения: ВК1 – вязкость крови при высоких скоростях сдвига; ВК2 – вязкость крови при низких скоростях сдвига; ВП – вязкость плазмы; ВС – вязкость суспензии; Hct – гематокрит; МСНС – средняя концентрация гемоглобина в эритроците; ПАЭ – показатель

агрегации эритроцитов; ИУЭ – индекс деформация эритроцитов; Hct/η – индекс эффективности транспорта кислорода кровью.

При большей текучести крови у лиц с относительно высоким МПК и показатель реологической эффективности транспорта кислорода (отношение Hct/η) был достоверно выше, на 8% ($p < 0,05$). В обеих группах выявлена умеренная корреляция между МПК/кг и Hct/η . Коэффициенты корреляции составили 0,48 и 0,53 для групп 1 и 2, соответственно. Кроме того, МПК/кг заметно коррелировало с ДЭ ($r=0,47$ – группа 1 и $r=0,610$ – группа 2). Это свидетельствует о важной роли ДЭ в тканевой перфузии и доставки O_2 клетки [5]. Микрореологические характеристики эритроцитов положительно изменяются под влиянием донора NO и стимулировании фермента (NO-синтазы) его эндогенного синтеза [6]. Было установлено, что НПН достоверно повышал ДЭ в обеих группах наблюдений на 8% (рис. 3а и б; $p < 0,01$).



a



б

Рис. 3. Изменение деформируемости эритроцитов (ДЭ) у лиц умеренным МПК/кг (а) и относительно высоким МПК/кг (б).

* Отличие от контроля статистически значимо ($p < 0,01$).

Под влиянием *L*-аргинина ДЭ несколько более выражено увеличивалась, чем после НПН. Донор сероводорода изменял ДЭ сходным образом. Прирост составил 7,5 и 9,0% в группе 1 и 2, соответственно, рис. 3а и 3б). Донор NO снижал агрегацию эритроцитов в обеих группах. При этом в группе 1 на 28%, а у лиц второй группы – на 32% ($p < 0,01$). После инкубации эритроцитов с *L*-аргинином снижение АЭ было менее выраженным и составило 17 и 22% ($p < 0,05$), соответственно в группе 1 и 2. Что касается донора H_2S , то под влиянием NaHS уменьшение АЭ в группе 1 составило 26% ($p < 0,05$), а у лиц группы 2 – 38% ($p < 0,01$).

Закключение

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о положительном влиянии газотрансмиттеров (ГТ), оксида азота и сероводорода на микрореологические свойства эритроцитов. Поскольку выявлены заметные корреляции ДЭ с МПК, то можно полагать, что положительные ответы на доноры ГТ могут вно-

сдать вклад в повышение эффективности капиллярной перфузии и обеспечение тканей кислородом. При этом у лиц с более высоким обеспечением организма кислородом *in vitro* чувствительность к донорам ГТ заметно выше, на это указывали и другие авторы [7].

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и БРФФИ в рамках научного проекта №20-515-00019\20-А

Библиографический список

1. Pries A.R., Secomb T.W. Rheology of the microcirculation // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2003. 29, № 3-4. 143–148.
2. Dintenfass L. Clinical applications of hemorheology. The Rheology of blood, blood vessels and associated tissues / New York : Oxford Press, 1981. 22–50.
3. Uyuklu M., Meiselman H.J., Baskurt O.K. Role of hemoglobin oxygenation in the modulation of red blood cell mechanical properties by nitric oxide. Nitric Oxide. 2009.21(1):20-26. doi: 10.1016/j.niox.2009.03.004.
4. Muravyov A.V., Antonova N., Tikhomirova I.A. Red blood cell micromechanical responses to hydrogen sulfide and nitric oxide donors: Analysis of crosstalk of two gasotransmitters (H₂S and NO). Series on Biomechanics. 2019;33(2):34-40.
5. Ernst E., Matrai A. Blood rheology in athletes // J. Sports Med. and Phus. Fitness. – 1985. – Vol. 4. – P. 207–212.
6. Mozar A., Connes P., Collins B., Hardy-Dessources M.D., Romana M., Lemonne N., Bloch W., Grau M. Red blood cell nitric oxide synthase modulates red blood cell deformability in sickle cell anemia. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2016. 64, 47–53. doi: 10.3233/CH162042.
7. Connes P., Pichon A., Hardy-Dessources M.D., Waltz X., Lamarre Y., Simmonds M.J., Tripette J. Blood viscosity and hemodynamics during exercise // Clin Hemorheol Microcirc. 2012;51(2):101-9. doi: 10.3233/CH-2011-1515.

*Остроумов Р.С., Муравьев А.В.,
Булаева С.В., Михайлов П.В., Муравьев А.А.*

РЕГИСТРАЦИЯ ВЕЛИЧИНЫ МАКСИМАЛЬНОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ КИСЛОРОДА: СРАВНЕНИЕ ДВУХ МЕТОДОВ И АНАЛИЗ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Аннотация. Показателем аэробной работоспособности как основы выносливости является величина максимального потребления кислорода (МПК). Ее можно использовать для определения профессиональной пригодности в ряде профессий и при отборе и контроле в спорте. Для определения МПК чаще используют расчетные методы в комплексе с нагрузочным тестированием. Вместе с тем разработаны и методы прямого определения этого параметра функционального состояния организма. Однако параллельной регистрации с применением современных методов и аппаратуры выполнено недостаточно для надежных выводов о преимуществах и недостатках методов определения МПК. Для решения этих задач было выполнено определение МПК расчетным методом и на этой же группе испытуемых – прямым методом на основе регистрации потребления O_2 и выделения CO_2 .

Были получены данные, которые свидетельствовали о том, что прямой метод дает на 16% ($p < 0,05$) меньшие показатели МПК. Однако результаты обоих методов тесно и положительно коррелировали между собой ($r = 0,96$). Получено регрессионное соотношение, на основе которого можно с точностью более 90% прогнозировать результаты, как при прямой регистрации МПК.

Ключевые слова: Максимальное потребление кислорода, методы определения, физическая работоспособность, корреляция

*Ostroumov R.S., Muravyev A.V.,
Bulaeva S.V., Mikhailov P.V., Muravyev A.A.*

REGISTRATION OF THE VALUE OF MAXIMUM OXYGEN CONSUMPTION: COMPARISON OF THE TWO METHODS AND ANALYSIS OF THE RESULTS OBTAINED

Abstract. The indicator of aerobic performance as the basis of endurance is the value of the maximum oxygen consumption (VO_{2max}). It can be used to determine professional suitability in a range of professions and in selection and control in sports. To determine the VO_{2max} , computational methods are often used in combination with load testing. At the same time, methods have been developed for the direct determination of this parameter of the functional state of the organism. However, parallel registration with the use of modern methods and equipment is insufficient for reliable conclusions about the advantages and disadvantages of methods for determining the IPC. To solve these problems, the determination of the MIC was carried out by the calculation method and on the same group of subjects - by the direct method based on the registration of O_2 consumption and CO_2 emission. Data were obtained that indicated that the direct method gives 16% ($p < 0.05$) lower VO_{2max} values. However, the results of both methods were closely and positively correlated with each other ($r = 0.96$). A regression relation was obtained, on the basis of which it is possible to predict the results with an accuracy of more than 90%, as in the case of direct registration of VO_{2max} .

Key words: Maximum oxygen consumption, methods of determination, physical performance, correlation

Введение

Максимальное потребление кислорода (МПК) (англ. $VO_2 \max$ – maximal oxygen consumption) – это наибольшее количество кислорода, выраженное в миллилитрах, которое человек способен потреблять в течение 1 минуты. Является критерием аэробной мощности. Считается, что именно МПК является фактором, лимитирующим работоспособность в циклических видах спорта [1]. Эта величина либо рассчитывается при нагрузочном тестировании или определяется одним из прямых методов [2, 3].

У двух подходов к определению МПК имеются плюсы и минусы. Так, например, минусом прямого метода является большая длительность процедуры и возникающее у части спортсменов локальное утомление мышц нижних конечностей. Другим недостатком является изнуряющий характер процедуры, что не позволяет часто проводить этот тест. Были предложены методы и приемы, позволяющие определить МПК расчетным способом [3]. Наиболее часто используют субмаксимальный тест PWC₁₇₀. Физическая работоспособность в этом случае выражается в величинах той мощности нагрузки, при которой ЧСС достигла или могла бы достигнуть показателя 170 уд/мин. На этом уровне ЧСС происходит оптимальная интенсификация работы кислородтранспортной системы, резервные возможности которой исследуются в этом тесте [4]. К недостаткам косвенного определения МПК относится его меньшая точность и не совсем адекватные характеристики, используемые для расчетной процедуры (величины ЧСС вместо уровня потребления кислорода). Учитывая выше сказанное **целью** настоящей работы было сравнение методов расчетного и прямого определения величины МПК на группе одних и тех же лиц.

Материал и методы исследования

Исследование проводилось на группе добровольцев, тренирующихся в видах спорта на выносливость, практически здоровых (n=55). У всех испытуемых регистрировали показатели физического развития (рост, массу тела, жизненную емкость легких) для формирования групп наблюдения. В программу исследования включали измерение артериального давления (АД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) с помощью автоматического манометра OMRON M2. Большинство из испытуемых были подвергнуты двум тестам, не прямому и прямому расчету МПК: 1) регистрация мощности аэробной нагрузки в многоступенчатом велоэргометрическом (велоэргометр Monarch 970, Швеция) тесте PWC₁₇₀ с последующим расчетом величины МПК по В.Л. Карману [В.Л. Карман и др., 1988]; 2) вторая, ступенчато повышающаяся нагрузка, выполняемая до отказа, включала регистрацию вдыхаемого кислорода и выдыхаемого углекислого газа с помощью метабологафа СПИРОЛАН-М (Санкт-

Санкт-Петербург, Россия). В ходе выполнения теста нагрузку повышали с шагом 25 Вт в минуту до достижения ЧСС 85% от максимальной величины при определении МПК непрямым методом. Во втором методе (прямое определение МПК) нагрузка повышалась «до отказа». Для расчета индекса PWC170 строили график зависимости ЧСС от мощности нагрузки в табличном редакторе Excel. Для определения ЧСС во время нагрузки использовали монитор сердечного ритма O-SYNCE NAVI2COACH.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием цифрового редактора Microsoft Excel. Гипотеза о взаимосвязи данных проверялась по коэффициентам ранговой корреляции Спирмена [3]. Данные в таблицах и тексте представлены как $M \pm \sigma$.

Результаты исследования

При регистрации величины МПК двумя разными методами было установлено, что между полученными данными имелась достоверное различие (рис. 1). Разница, в данной группе, составила 16% ($p < 0,05$).

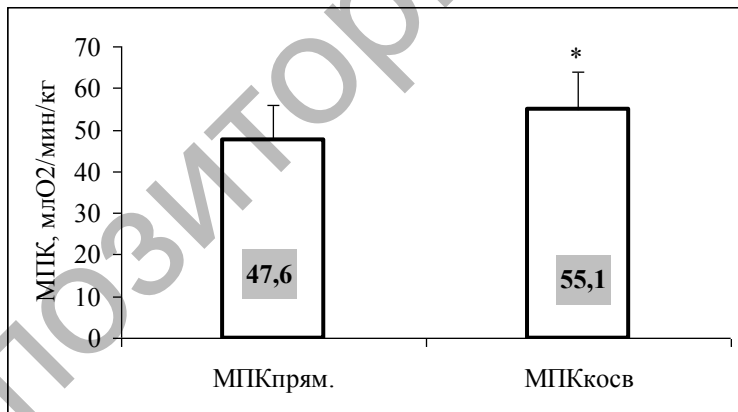


Рис. 1. Разница величин МПК при определении прямым методом и методом расчета на основе регистрации PWC170

Примечание: * означает, что различие между группами достоверно при $p < 0,05$.

При этом меньшие величины МПК были зарегистрированы при прямом методе оценки этого параметра ($47,63 \pm 8,90$

мл/мин/кг; при расчетном методе – $55,07 \pm 8,90$ мл/мин/кг). При проведении корреляционного анализа между двумя групп показателей прямого и косвенного определения МПК у одних и тех же лиц, было найдена их заметная взаимосвязь. При этом коэффициент корреляции был положительным и составил 0,96 (рис. 2).

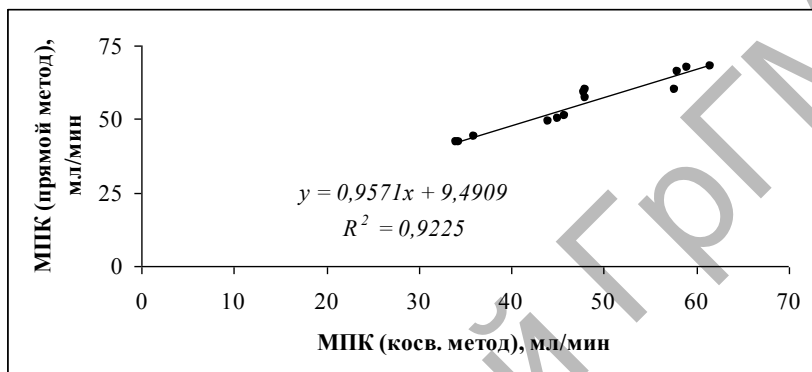


Рис. 2. Взаимосвязь между показателями прямого и косвенного определения величины максимального потребления кислорода (МПК) при нагрузочном тестировании.

Заклучение

Таким образом, на основе проведенного сравнительного исследования можно заключить, что:

1) прямой метод определения МПК, основанный на регистрации величин рабочего (во время нагрузки) потребления кислорода и выдыхаемой углекислоты, дает результаты у одних и тех же лиц в среднем на 16% ($p < 0,05$) меньше, чем при расчетном варианте оценки МПК. В абсолютных величинах эта разница составила $7,44$ млО₂/кг/мин ($47,63 \pm 8,90$ мл/мин/кг; при расчетном методе – $55,07 \pm 8,90$ мл/мин/кг).

2) коэффициенты вариации прямого метода определения был равен 10,7% на данной статистической выборке ($n=17$), а расчетного (при нагрузочном тестировании) – 12,3%.

3) между двумя методами регистрации и оценки величины максимального потребления кислорода в условиях однотипного нагрузочного тестирования (ступенчатое повышение нагрузки

на велоэргометре) получена достаточно высокая корреляция, с коэффициентом 0,96.

4) полученное регрессионное уравнение вида: $y = 0,96x + 9,49$ позволяет с точностью выше 90% прогнозировать скорректированную величину МПК, полученную расчетным методом на основе только нагрузочного тестирования на велоэргометре.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и БРФФИ в рамках научного проекта №20-515-00019\20-А

1. Библиографический список

2. Афанасьев, В. В. Спортивная метрология / В. В. Афанасьев, А. В. Муравьев, И. А. Осетров, П. В. Михайлов. – Ярославль : Изд-во ЯГПУ, 2009. – 242 с.

3. Аулик И.В. Определение физической работоспособности в клинике спорта : М. : Медицина, 1990. – 192 с.

4. Карпман В.Л. Тестирование в спортивной медицине / В. Л. Карпман, З. Б. Белоцерковский, И. А. Гудков. – М.: Физкультура и спорт, 1988. – 234 с.

5. Белоцерковский З. Б. Эргометрические и кардиологические критерии физической работоспособности у спортсменов: М.: Советский спорт, 2009. – 348 с.

УДК 616.5-004.1+617.577

***Замышляев А.В., Масина И.В.,
Емануйлова Н.В., Четвертакова Ж.Е.***

РЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРОВИ У БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ

Аннотация. Системная склеродермия является мультисистемным аутоиммунным ревматическим заболеванием, с развитием васкулопатии, ишемии тканей. Исследование реологических свойств крови позволяет понять отдельные механизмы патогенеза изменений текучести крови, выявить характер и выра-

женность гемореологических изменений у больных с разной степенью активности.

Ключевые слова: системная склеродермия, вязкость крови, агрегация и деформируемость эритроцитов, транспорт кислорода.

*Zamyshlyayev A.V., Masina I.V.,
Emanuylova N.V., Chetvertakova Zh.E.*

RHEOLOGICAL PROPERTIES OF BLOOD IN PATIENTS WITH SYSTEMIC SCLERODERMIA

Annotation. Systemic scleroderma is a multisystem autoimmune rheumatic disease, with the development of vasculopathy, tissue ischemia. The study of the rheological properties of blood makes it possible to understand the individual mechanisms of the pathogenesis of changes in blood flow, to reveal the nature and severity of hemorheological changes in patients with different degrees of activity.

Key words: systemic scleroderma, blood viscosity, aggregation and deformability of erythrocytes, oxygen transport.

Введение

Системная склеродермия (ССД) входит в состав ревматических заболеваний, характеризующих аутоиммунным поражением соединительной ткани различных органов и систем [1]. Большую актуальность имеет изучение потоковых свойств крови при ревматических заболеваниях. Функция кровообращения в целом, как в норме, так и при патологии в значительной мере зависит от реологических свойств крови [2]. В капиллярном русле и посткапиллярных венулах регуляция кровотока в основном определяется реологическими факторами – деформируемостью и агрегацией эритроцитов. Что касается гемореологических нарушений, которые могут иметь место при системной склеродермии, то следует заметить, что информация по этому вопросу фрагментарна и комплексных исследований этой проблемы не проводилось [3]. Литературные данные об изменениях реологических свойств крови при ССД немногочисленны, при этом имеющиеся работы, как правило, касаются исследования отдельных гемореологических показателей и недостаточно полно

изучены при разных степенях активности патологического процесса. Последнее делает актуальным выполнение комплексного исследования реологических свойств крови при ССД с разной степенью активности заболевания.

Материалы и методы

Обследовано 30 больных ССД, женщины. Средний возраст больных с ССД составил 45,77 года, длительность заболевания на момент исследования 10,42 года. У большинства больных – 18 (60%) отмечено хроническое течение, у 11 (36,66%) подострое течение, а у 1 (3,33) острое течение. Диагностирована максимальная – 2 (6,66%), умеренная – 13 (43,33%) и минимальная – 15 (30%) степени активности воспалительного процесса. Постановка диагноза осуществлялась с использованием критерием Американской ревматологической ассоциации. Контрольную группу составили 30 практически здоровых добровольцев, женщины, средний возраст 38,4 года. Проводили определение гематологических и биохимических параметров крови, в частности общего белка и его фракций, а также уровень фибриногена плазмы. Измеряли вязкость крови, плазмы и суспензии эритроцитов (суспензия эритроцитов в аутологической плазме и/или буфере со стандартизованным гематокритом, равным 40%). Регистрацию вязкости проводили при помощи полуавтоматического капиллярного вискозиметра. При постоянных величинах геометрии капилляра (диаметр и длина рабочей части) приложенное движущее давление 10, 20, 40, 80 и 100 мм в д. ст. давало величины напряжения сдвига порядка 0,39 Н.м⁻² до 3,90 Р.м⁻². Коэффициент вариации метода вискозиметрии составлял менее 1,0%. Для калибровки измерительного капилляра и проверки точности производимых измерений вязкости крови и ее компонентов, вискозиметр периодически тестировали при помощи жидкости известной вязкости (40% раствор сахарозы). Определение показателя гематокрита (Hct) цельной крови и приготовленных суспензий эритроцитов проводили на специальной микрогематокритной центрифуге ТН-21 (Германия). Оценку величины гематокрита проводили с помощью бинокулярного микроскопа МБС-9, который позволял определить более точно измеряемую величину столбика «упакованных» эритроцитов. Кон-

центрацию гемоглобина крови (Hb) измеряли при помощи цианметгемоглобинового метода. Отношение гематокрит/вязкость (НСТ/) использовали для оценки реологической эффективности транспорта кислорода в ткани [2]. Деформируемость и агрегация эритроцитов представляют микрореологическую часть гемореологического профиля. В прикладных или клинических реологических исследованиях для оценки деформируемости эритроцитов используется расчет индекса их ригидности [4, 5]. Агрегацию эритроцитов измеряли двумя методами: 1. с помощью автоматического агрегометра (Mугene – Германия), который дает возможность регистрировать четыре индекса агрегации; 2. Путем прямой микроскопии суспензии эритроцитов в аутологичной плазме. Второй метод оценки агрегации эритроцитов заключался в ее прямой оптической микроскопии. При агрегатометрии регистрировали число агрегатов и количество неагрегированных эритроцитов. Рассчитывали отношение числа агрегатов к количеству неагрегированных клеток, и это отношение рассматривали как показатель агрегации (ПА). Данный метод позволял вычислить число эритроцитов, приходящихся на один агрегат. Статистическую обработку полученных цифровых материалов, включая корреляционный и регрессионный анализ, проводили на РС IBM, используя пакет прикладных программ Excel. За уровень статистически значимых принимали изменения при $p < 0,05$ и $< 0,01$. Поскольку гемореологические параметры не всегда соответствуют критерию нормального распределения, то в ряде случаев оценку статистической значимости различий проводили с использованием непараметрических критериев.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведенное исследование у больных ССД с минимальной степенью активности (ССД1) показало, что основной гемореологический параметр – вязкость цельной крови при высоких скоростях сдвига, был достоверно выше у больных, чем в контроле ($p < 0,05$), причиной которой было значительно более высокая вязкость плазмы в группе больных, чем в контрольной группе ($p < 0,02$). При относительно низких скоростях сдвигового течения, вязкость крови у больных (ССД1) была на 70% выше, чем у здоровых лиц. Это значительно ухудшает текучесть крови. Су-

щественный вклад в величину вязкости крови и в этих условиях, по-видимому, оказывала обратимая агрегация эритроцитов (АЭ). Ее величина на 78% превышала уровень этого показателя здоровых лиц ($p < 0,01$). Расчет коэффициента детерминации показал, что прирост вязкости при низких скоростях сдвига у больных ССД1 на 41% мог быть связан с агрегацией эритроцитов. Выраженное увеличение АЭ отрицательно сказывается на общей потоковой ситуации у больных. Прирост АЭ был связан с высокой концентрацией фибриногена, роль которого в формировании межклеточных «мостиков» является ключевой [6]. При ССД с минимальной степенью активности (ССД1) более существенные изменения обнаружены в ее микрореологической части. Комплекс параметров свидетельствовал об отрицательной динамике деформируемости эритроцитов. Более высокая ригидность эритроцитов у больных лиц (17%), вероятно связана с негативными сдвигами вязкоэластичности их мембран. Изменение реологических показателей у больных с умеренной и выраженной степенью активности системной склеродермии (ССД 2-3) по направленности были близки к тем, что были выявлены у пациентов с ССД1. Вместе с тем величина сдвигов реологических характеристик была значительно большей. Так основным показателем реологии крови – ее вязкость при высоких и низких напряжениях сдвига был соответственно на 43 и 95% выше, чем в контроле. При высоких напряжениях сдвига, ухудшение текучести цельной крови связано с основным с высокой вязкостью плазмы. На это указывал и высокий коэффициент корреляции между вязкостью крови и плазмы ($p < 0,01$). Роль концентрации эритроцитов в изменении вязкости крови в этих условиях была не велика. Микрореологических параметры эритроцитов оказались измененными в большей степени у больных ССД 2-3. Особенно при сравнении показателей деформируемости эритроцитов. Индекс ригидности и вязкость эритроцитов в буфере при больных ССД 2-3 была повешена практически в 2 раза. Агрегация эритроцитов у больных 2-3 значительно превышала показатели здоровых лиц (на 129%).

Из данных корреляционного анализа следует, что вязкость крови при низких скоростях сдвига достоверно коррелировала с агрегацией эритроцитов ($p < 0,01$). На основе расчета

коэффициента детерминации можно полагать, что изменение вязкости крови при низких скоростях сдвига у этих больных почти на 71% определяется агрегацией эритроцитов [7]. Необходимо также заметить, что в основе изменения основных гемореологических параметров у больных ССД, особенно на стадии умеренной и максимальной активности патологического процесса, лежит изменение концентрации фибриногена. Были найдены достоверные корреляции между фибриногеном плазмы, ее вязкостью, агрегацией эритроцитов и вязкостью крови при низких напряжениях сдвига. Если агрегация эритроцитов в большей степени оказывает влияние на сопротивление кровотоку в зоне невысоких скоростей сдвига [8], то деформация эритроцитов играет важную роль во всех отделах сосудистого русла [9]. Проведенный анализ факторов, определяющих потоковую деформацию эритроцитов у больных ССД 2-3 показал, что собственная способность к изменению формы у эритроцитов в этих условиях была заметно меньше, чем у пациентов, страдающих более легкой формой заболевания. Кроме того, было найдено, что у этих больных среднее артериальное давление, формирующее сдвиговое деформирующее усилие на эритроцитах, было ниже, чем у пациентов ССД1. В этих условиях обеспечить передачу сдвигового напряжения на клетки можно, только путем увеличения вязкости суспензионной среды, в которой находятся эритроциты.

Заключение

Таким образом, проведенное исследование особенностей реологических свойств крови у больных ССД показало, что на уровне макрореологических характеристик происходит выраженное увеличение вязкости цельной крови при высоких и низких напряжениях сдвига. В основе повышения вязкости крови, и как следствие снижения ее текучести, лежит высокая вязкость суспензионной среды – плазмы. Снижение текучести цельной крови отрицательно сказалось на ее транспортном потенциале для кислорода. Эффективность его доставки в ткани была сильно меньше у больных по сравнению со здоровыми лицами. Причем у больных с более высокой степенью активности болезни, падение эффективности транспорта кислорода

было более выраженным. Результаты исследования показали, что при ССД происходит снижение деформируемости эритроцитов и повышение их агрегации. Важным механизмом нарушения реологических свойств крови при ССД является повышение концентрации фибриногена и снижение эластичности мембран эритроцитов.

Библиографический список

1. Шостак Н.А., Клименко А.А. Системная склеродермия: современная классификация и методы лечения. Лечебное дело. 2009; 4: 4-12.
2. Stoltz J.F., Donner M. Red blood cell aggregation: measurements and clinical applications// Turkish. J. Med, Sci. 1991; - Vol. 15: 26-39.
3. Гусева Н.В. Системная склеродермия // Ревматология: национальное руководство/ Под редакцией Е.Л. Насонова, В.А. Насоновой. М.: ГОЭТАР-Медиа, 2008. С. 447 – 467.
4. Dintenfass L. Red cell rigidity “Tk” and filtration // Hemoreology. 1985; - Vol. 162: 241-244.
5. Brun J.F., Khaled S., Raynaud E., Bouix D. The triphasic effect of exercise on blood rheology: which relevance to physiology and pathophysiology? Clin. Hemorheol. and Microcirculation. 1998; - Vol. 18: 104-109.
6. Baskurt O.K. et al. Handbook of Hemoreology and hemodynamics. IOS PRESS. 2007; 392-432.
7. Rampling M.W., Meiselman H.J., Neu B., Baskurt O.K. Mechanical properties of the red cell membrane. I. Membrane Stiffness and intracellular pressure// Biophys. J. 2004; - Vol. 4: 115-124.
8. Галенок В.А., Гостинская Е.В., Диккер Е.В. Гемореология при нарушениях углеводного обмена. Новосибирск: Наука, 1987. 258 с.
9. Schmid-Schonbein H.W. Blood rheology in hemoconcentration// High Altitude Physiol. And Med. New York: Springer. 1982: 109-116.

*Емануйлова Н.В., Емануйлов В.И.,
Замышляев А.В., Масина И.В., Четвертакова Ж.Е.*

**КОМПЛЕКСНЫЕ ГЕМОСТАЗИОЛОГИЧЕСКИЕ
И РЕОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У БОЛЬНЫХ
СИСТЕМОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ**

Аннотация. У больных СКВ отмечены нарушения, как в макро, так и в микрореологическом звеньях, что подтверждалось значительным снижением текучести цельной крови, как при высоких, так и при низких скоростях сдвига, повышением агрегации эритроцитов и снижением их способности к деформации, что сопровождалось ухудшением транспортного потенциала крови и снижением индекса доставки кислорода в ткани.

Наряду с реологическими нарушениями была отмечена активация эндотелия, системы тромбоцитарно-сосудистого и коагуляционного гемостаза, что находило своё отражение в значительном увеличении концентрации AgvFW, повышении агрегации тромбоцитов, как спонтанной, так и индуцированной АДФ и коллагеном, повышением маркеров тромбинемии: уровня Д-димера, РФМК и особенно фибриногена.

Ключевые слова: Гемореология, гемостаз, системная красная волчанка.

*Emanuylova N.V., Emanuylov V.I.,
Zamyshlyayev A.V., Masina I.V., Chetvertakova Zh.E.*

**COMPLEX HEMOSTASIOLOGICAL AND RHEOLOGICAL DIS-
ORDERS IN PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMA-
TOSUS**

Annotation. In patients with SLE, violations were noted, both in the macro and microrheological links, which was confirmed by a significant decrease in the flow of whole blood, both at high and low shear rates, an increase in the aggregation of red blood cells and a decrease in their ability to deform, which was accompanied by a de-

terioration in the transport potential of blood and a decrease in the index of oxygen delivery to tissues. Along with rheological disorders, activation of the endothelium, platelet–vascular and coagulation hemostasis was noted, which was reflected in a significant increase in the concentration of AgvFW, an increase in platelet aggregation, both spontaneous and induced by ADP and collagen, and an increase in markers of thrombinemia: the level of D–dimer, RFMC, and especially fibrinogen.

Key words: Hemorheology, hemostasis, systemic lupus erythematosus.

Введение

Исследованиями последних лет было показано, что при ревматических заболеваниях (РЗ), в частности при системной красной волчанке происходят нарушения в системе кровообращения, особенно в ее терминальном отделе. Вместе с тем, известно, что эффективность доставки кислорода и целого спектра биологически активных веществ зависит от геометрических параметров сосудистого русла, состояния сосудистой стенки, системы гемостаза и от реологических характеристик крови и ее элементов. [1, 8]. На некотором этапе развития аутоиммунного заболевания тяжесть состояния больного определяется не основным заболеванием, а выраженностью гемореологической патологии. При РЗ гемореологические изменения могут быть самостоятельными факторами риска и иметь прогностическое значение [9]. Отмечена связь агрегации эритроцитов со степенью кардио–васкулярного риска [5]. Одной из основных причин летальности при аутоиммунной патологии, прежде всего системной красной волчанке (СКВ), являются сердечно–сосудистые катастрофы (инфаркт миокарда, инсульт, внезапная сердечная смерть), обусловленные ранним развитием и быстрым прогрессированием атеросклеротического поражения сосудов, особенно у пациентов молодого и среднего возраста [6]. Отмечена связь нарушений микроциркуляции с эндотелиальной дисфункцией, которая является показателем степени риска развития сердечно–сосудистых катастроф при различных заболеваниях, включая системные ревматические процессы. При этом имеет место

устойчивая взаимосвязь показателей повреждения эндотелия с нарушением свертывания крови и процессами атерогенеза [2].

Таким образом, целью данного исследования явилось комплексное изучение реологических свойств крови, гемостазиологических параметров, а также некоторых показателей повреждения эндотелия у больных СКВ.

Материал и методы

Обследовано 32 пациента СКВ, диагноз устанавливался на основании критериев АРА. Оценка активности производилась в соответствии с индексом SELENA SLEDAI. Острое течение заболевания имелось у 6 (18,6%), подострое – у 18 (56,3%) и хроническое – у 8 (25%) больных. Индекс SELENA SLEDAI до 4 баллов имели 6 пациентов, с 4 до 12 баллов – 24 больных, выше 12 баллов – 2 пациента. Группу контроля составили 30 здоровых женщин. Измеряли вязкость цельной крови (ВЦК) при низких и высоких скоростях сдвига (0,14 Н.м, 1,44 Н.м), плазмы, суспензии эритроцитов в изотоническом растворе хлорида натрия (рН=7,4; Нсг=40%) на полуавтоматическом капиллярном вискозиметре. Эффективность доставки кислорода в ткани определяли по величине отношения гематокрита к вязкости крови (Нсг/η). На основе величины вязкости крови, плазмы и гематокрита рассчитывали индекс ригидности эритроцитов - Тк для цельной крови. Агрегацию эритроцитов определяли с помощью оптической микроскопии и видеорегистрации, с последующей компьютерной обработкой данных и определением интегрального индекса агрегации (ИИА). Состояние тромбоцитарного звена гемостаза изучали на агрегометре BIOLA 230LA, измеряя спонтанную и индуцированную АДФ и коллагеном агрегацию тромбоцитов (АТ) (SIGMA, США, «Технология-Стандарт, Россия).

Коагулометрические показатели (тромбиновое время (ТВ), протромбиновое время (ПВ), активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время (АЧТВ), исследовались на коагулометре фирмы Solar с использованием инструкций к соответствующим реактивам «Технология–Стандарт» Москва. Проводилось количественное определение растворимых фибринмономерных комплексов (фенатролиновый тест), определение содержания Д-димера в плазме (полуколичественный вариант, D–

Dimer test (Diagnostica Stago, Mannheim). Для исследования повреждения эндотелия использовали определение антигена фактора Виллебранда (AgvWF) (Technozym vWF: Ag Elisa, Австрия) в сыворотке крови методом ИФА и содержание циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) в периферической крови по Hladovec J. (1978) с использованием камеры Горяева для подсчёта десквамированных эндотелиоцитов.

Статистическая обработка материала проводилась в программном пакете STATISTICA 10.0. Для анализа соответствия вида распределения признака закону нормального распределения использовался критерий Шапиро-Уилка. Парное сравнение групп проведено с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. При исследовании корреляции признаков использован непараметрический метод Спирмена.

Результаты и обсуждение

По данным исследования, вязкость цельной крови у больных СКВ при высоких (ВЦК1) и низких (ВЦК2) скоростях сдвига была выше, чем в группе контроля. Снижение текучести крови у больных СКВ было связано и с приростом вязкости плазмы (ВП), что согласуется с данными других исследователей [5].

В микрососудистом русле на первый план выступают нарушения деформируемости и агрегации эритроцитов, что обуславливает эффективность капиллярной перфузии тканей. [5]. Усиление адгезивных свойств эритроцитов может затруднять циркуляцию крови на уровне капилляров, способствуя прогрессированию тканевого поражения [5]. Было отмечено увеличение вязкости суспензии эритроцитов (ВСЭ) ($p < 0,05$), а также существенное снижение индекса деформируемости эритроцитов (Тк) ($p < 0,05$). При таких изменениях значительно снижался показатель эффективности доставки кислорода в ткани (ТО2) ($p < 0,05$) (табл.1).

Таблица 1
Гемореологические параметры больных СКВ

Показатель	Контроль (n=30)	СКВ (n=32)
ВЦК1(мПа*с)	4,6 (4,5-4,96)	5,97 (5,76-6,44)*
ВЦК2 (мПа*с)	5,8 (5,7-6,1)	8,08 (5,6-10,2)**
ВСЭ (мПа*с)	3,07 (2,9-3,3)	3,5 (3,1-3,8)*

ВП (мПа*с)	1,77 (1,74-1,89)	2,7 (2,2-3,5)**
Тк (отн. ед.)	0,73 (0,69-0,74)	0,80 (0,64-0,86)*
ТО2(отн. ед.)	9,3 (8,6-9,7)	8,2 (6,8-8,7)*

Примечание: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

При исследовании гемостазиологических параметров больных видно, что значения ТВ, ПВ, АЧТВ не отличались от контрольных, однако изменения АЧТВ в группе больных СКВ, не были однородными, так у больных с АФС (12,5% пациентов) АЧТВ составил 40,8 (39,3–41,5) сек. ($p < 0,0011$), что может свидетельствовать об усиленном тромбообразовании и потреблении факторов свертывания в плазме у исследуемых больных. Непостоянство и чередование фаз гипер- и гипокоагуляции особенно типичны для хронического ДВС-синдрома, описанного в литературе у больных ревматическими заболеваниями [3]. Прежде всего, следует обратить внимание на повышение содержания в плазме больных СКВ так называемых маркеров тромбинемии, а именно концентрации РФМК, фибриногена и Д-димера, что согласуется с данными литературы [4] (табл.2).

Таблица 2

Гемостазиологические показатели у больных системной красной волчанкой, (n=32)

Показатель	Контроль (n=30)	Больные СКВ (n=32)
Тромбиновое время (сек)	16,0(15,0–19,2)	17,8(11,7–20,6)
Протромбиновое время (сек)	15,1(14,9–15,4)	16,2(12,0–19,0)
АЧТВ (сек)	31,4(25,6–38,7)	33,5(26,3–38,0)
АЧТВ у больных с АФС (сек)	31,4(25,6–38,7)	40,8 (39,3–41,5)**
РФМК (мг%)	3,0(2,5–3,5)	3,5(3,0–6,0) **
Концентрация фибриногена (г/л)	2,7(2,3–3,3)	4,0(2,8–5,2)*
Д-димер (>500 нг/мл)	0	37,5%*

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$

Многими исследованиями показана высокая частота дисфункции эндотелия при системной красной волчанке. В нашем исследовании показатели, характеризующие повреждение эндотелия (AgvWF и ЦЭК), были также достоверно повышены. Вы-

явлено существенное повышение показателей спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов, что характеризует активацию тромбоцитарного звена гемостаза (табл. 3).

Таким образом, у больных СКВ отмечены нарушения, как в макро, так и в микрореологическом звеньях, что подтверждалось значительным снижением текучести цельной крови, как при высоких, так и при низких скоростях сдвига, повышением агрегации эритроцитов и снижением их способности к деформации, что сопровождалось ухудшением транспортного потенциала крови и снижением индекса доставки кислорода в ткани.

Таблица 3

Параметры тромбоцитарно – сосудистого гемостаза у больных СКВ

Показатель	Контроль (n=30)	СКВ (n=32)
Спонтанная АТ (отн.ед.)	0,95 (0,84-1,11)	1,19 (1,01-1,21)*
АТ с АДФ 5 мкМ, %	49,9 (45-53,7)	62,7 (57,4-63,0)**
АТ с коллагеном 20мг/мл, %	40,8 (39,7-43)	58,0 (52,5-62,8)**
AgvWF (Ме/мл)	0,64 (0,48-0,78)	1,13 (1,03-1,24)**
ЦЭК (*10 ⁴ /л)	2,0 (2,0-3,0)	5,0 (5,0-6,0)**

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$

Наряду с реологическими нарушениями была отмечена активация эндотелия, системы тромбоцитарно–сосудистого и коагуляционного гемостаза, что находило своё отражение в значительном увеличении концентрации AgvFW, повышении агрегации тромбоцитов, как спонтанной, так и индуцированной АДФ и коллагеном, повышением маркеров тромбинемии: уровня Д-димера, РФМК и особенно фибриногена.

В соответствии с результатами корреляционного анализа можно констатировать наличие взаимосвязи между активностью процессов воспаления, активацией тромбоцитарного звена гемостаза и синдромом повышенной вязкости у больных СКВ, что подтверждается наличием корреляционных связей между ВЦК1 и индексом SELENA SLEDAI ($R=0,56$, $p=0,04$), активностью воспаления и спонтанной агрегацией тромбоцитов ($R=0,52$,

$p=0,03$). В группе больных СКВ отмечалась взаимосвязь микро-реологических нарушений, а именно снижение деформационной способности эритроцитарной мембраны с концентрацией антигена фактора фон Виллебранда (Тк с AgvWF). Данная взаимосвязь может означать, что изменения реологических свойств эритроцитов играют дополнительную роль в модификации функционального состояния сосудистого эндотелия.

У больных СКВ обнаружены однонаправленные изменения характеристик тромбоцитов и эритроцитов в сторону гиперагрегации, что подтверждалось наличием положительных корреляционных взаимосвязей между спонтанной АТ и индуцированной АТ с АДФ с показателем агрегации эритроцитов (ПА) (табл. 4).

Таблица 4

Корреляционные взаимосвязи между реологическими, гемостазиологическими параметрами у больных СКВ

Признак	R	p
ПА – Д-димер	0,56	0,0092
Тк с AgvWF	0,63	0,03
ТО2 – АТ с АДФ	-0,66	0,04
Спонтанная АТ - ПА	0,53	0,03
АТ с АДФ - ПА	0,52	0,04

Закключение

У обследованных нами больных СКВ выявляются комплексные нарушения в системе гемокоагуляции, уменьшение текучести крови, гиперагрегация эритроцитов, что в совокупности с активацией тромбоцитарного звена гемостаза и повреждением эндотелия приводит к снижению транспортного потенциала крови и снижению индекса доставки кислорода в ткани. Данные негативные изменения можно рассматривать как взаимодополняющие звенья патогенеза СКВ, усугубляющие сосудистую патологию, что позволяет использовать изменение данных показателей комплексно в качестве предикторов потенциального риска развития микроциркуляторных и тромботических осложнений у больных СКВ.

Библиографический список

1. Алекперов Р.Т., Мач Э.С., Вышлова М.А., Ирсов Н.Н. Корреляции гемореологических нарушений с функциональными изменениями микроциркуляторных сосудов при системной склеродермии. // *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2004; 10 (3) : 7-8.
2. Алекперов Р.Т., Тимченко А.В., Насонов Е.Л. Фактор некроза опухоли альфа при системной склеродермии. *Клин.мед.* 2003; 81 (12): 4-7.
3. Бокарев И.Н. Геморрагический синдром. – М.: Практическая медицина, 2006. – 128 с.
4. Вавилова Т. В., Воробьева Ю. К., Крупоткина И. Г. и др. Клиническое значение и особенности определения D–димера у амбулаторных больных. // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2009. – № 11. – С. 42–46.
5. Ильина А. Е., Клюквина Н. Г., Александрова Е. Н. и др. Атеросклеротическое поражение сосудов при системной красной волчанке и антифосфолипидном синдроме у мужчин. // *Клиническая медицина*. – 2006. – № 4. – С. 23 – 28.
6. Исмагилова Р.Р., Заманова Э.С., Максудова А.Н. Выживаемость пациентов с системной красной волчанкой: данные регионального регистра. // *Научно-практическая ревматология*. 2020;58(2):154–159.
7. Краснова Т.Н., Соколова И.А., Георгинова О.А. и др. Особенности реологических свойств крови у больных волчаночным нефритом. // *Клиническая нефрология*. 2009; 4: 45-49.
8. Митьковская Н.П. Реологические свойства крови и плазмы и показатели некоторых биохимических систем у больных системными заболеваниями соединительной ткани в процессе комбинированной терапии. // *БГМУ-Информация-БМЖ*. 2004; 3 (9): 1-3.
9. Рыкова С.Ю., Гафарова М.Э., Георгинова О.А. и др. Нарушение реологических свойств эритроцитов как самостоятельный фактор риска для больных системной красной волчанкой (СКВ). В кн.: *Гемореология и микроциркуляция (от функциональных механизмов в клинику): VII международная конференция*. Ярославль; 2009: 134.

*Четвертакова Ж.Е., Масина И.В.,
Емануйлова Н.В., Замышляев А.В.*

**СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЯМОГО
ИНГИБИТОРА РЕНИНА У ПАЦИЕНТОВ С СИСТЕМНОЙ
КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ И БОЛЬНЫХ
ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ**

Аннотация. Подбор патогенетически обоснованной анти-гипертензивной терапии у больных с системной красной волчанкой является актуальной проблемой. Целью исследования являлось сравнить гипотензивный эффект алискирена у пациентов с системной красной волчанкой и больных гипертонической болезнью. Полученные данные продемонстрировали более выраженное снижение суточных показателей АД в группе больных системной красной волчанкой на фоне 6-недельной терапии алискиреном, а также эффективность ее в нормализации суточного профиля АД у данной группы пациентов.

Ключевые слова: алискирен, артериальная гипертензия, системная красная волчанка, гипертоническая болезнь.

*Chetvertakova Zh.E., Masina I.V.,
Emanuylova N.V., Zamyshlyayev A.V.*

**COMPARISON OF THE EFFECTIVENESS OF A DIRECT RENIN
INHIBITOR IN PATIENTS WITH SYSTEMIC Lupus erythematosus
AND PATIENTS WITH HYPERTONIC DISEASE**

Annotation. The selection of pathogenetically grounded anti-hypertensive therapy in patients with systemic lupus erythematosus is an urgent problem. The aim of the study was to compare the hypotensive effect of aliskiren in patients with systemic lupus erythematosus and patients with essential hypertension. The data obtained showed a more pronounced decrease in daily blood pressure in the group of patients with systemic lupus erythematosus on the background of 6-week therapy with aliskiren, as well as its effectiveness

in normalizing the daily blood pressure profile in this group of patients.

Key words: aliskiren, arterial hypertension, systemic lupus erythematosus, hypertension.

Введение

Артериальная гипертензия (АГ) у больных с системной красной волчанкой (СКВ) является одним из наиболее часто встречаемых среди факторов риска сердечно-сосудистых осложнений (ССО) [1]. Проблема подбора эффективной терапии ССО в условиях комплексного лечения основного заболевания остается сложной задачей и четкие рекомендации по их лечению требуют дальнейшей разработки. В качестве антигипертензивной терапии при СКВ традиционно применяются ингибиторы АПФ (иАПФ), антагонисты рецепторов ангиотензина I (АРА), диуретики, блокаторы кальциевых каналов (БКК), при подборе препаратов используются классические подходы в лечении гипертензии [2]. Однако синдром АГ при СКВ имеет ряд патогенетических особенностей [3]. В связи с чем, проблема адекватного патогенетически обоснованного выбора антигипертензивных средств для данного заболевания является актуальной.

Цель исследования. Оценить эффективность применения прямого ингибитора ренина алискирена у больных системной красной волчанкой и гипертонической болезнью.

Материалы и методы

Обследован 68 пациент: из них 32 больных СКВ и 36 больных с гипертонической болезнью (ГБ), сопоставимых по возрасту и полу (все женщины, возраст в группе СКВ 52 [50;57], в группе ГБ 53 [50;59]), по длительности АГ (10 [5;14] лет в группе СКВ, 10 [5;15] в группе ГБ), по среднему уровню систолического и диастолического артериального давления и по предшествующей антигипертензивной терапии. Диагноз СКВ соответствовал диагностическим критериям Американской ревматологической ассоциации (1989). Степень активности СКВ определялась по шкалам SLEDAI и ECLAM. Среди обследованных пациентов острое течение не наблюдалось, подострое течение СКВ имело место у 9 человек (25%), 27 человек имели хроническое те-

чение заболевания (75%). Преобладали пациенты с I степенью активности - 32 человека (88,8%), II степень активности наблюдалась у 4 пациентов (11,1%), высокой степени активности выявлено не было. У 94,2 % больных СКВ установлена артериальная гипертензия I степени, у 5,8% регистрировалась АГ II. Предшествующая антигипертензивная терапия: 12 пациентов регулярно не принимали антигипертензивные препараты, в качестве препаратов «скорой помощи» использовали иАПФ. Монотерапия в основном низкими дозами иАПФ проводилась 14 пациентам, 6 пациентов принимали комбинацию иАПФ + диуретик.

Диагноз гипертонической болезни соответствовал классификационным критериям ВНОК (Клинические рекомендации РКО, 2013). Артериальная гипертензия I степени была выявлена у 95,6 % пациентов данной группы, у 4,4 % регистрировалась АГ II степени. Предшествующая антигипертензивная терапия: 11 пациентов регулярно не принимали антигипертензивные препараты, 20 больных находились на терапии низкими дозами иАПФ и 5 пациентов принимали комбинацию иАПФ + диуретик.

Пациентам проводилось физикальное обследование. Лабораторные исследования включали: биохимический анализ крови: креатинин, мочевины, СРБ, антитела к нативной ДНК, проводился расчет скорости клубочковой фильтрации по формуле MRDR, клиренс креатинина оценивался по формуле Кокрофт-Голда. Уровень ренина плазмы крови определялся методом радиоиммунного анализа.

Суточное мониторирование артериального давления (СМАД) проводили на аппарате BPLab (ООО «Петр Телегин» Н. Новгород, Россия). Анализировали следующие показатели: средние значения систолического и диастолического артериального давления (САД и ДАД), индексы времени (ИБ САД и ИБ ДАД), вариабельность САД и ДАД в дневные и в ночные часы, также суточный индекс (СИ) и величину утреннего подъема артериального давления. Пациентам СКВ и больным с ГБ назначался алискирен в дозе 150 мг в сутки в течение 6 недель. Больным, не получавшим ранее гипотензивные препараты, алискирен был рекомендован в качестве монотерапии. Пациентам, которые ранее находились на монотерапии или в комбинации иАПФ, производилась замена иАПФ на прямой ингибитор ренина.

Результаты

После 6-недельной терапии алискиреном в группе больных СКВ выявлено достоверное снижение суточных показателей АД. Величина дневного среднего САД уменьшилась на 5 мм рт. ст. ($p < 0,001$), а снижение среднего САД в ночные часы составило 28 мм рт. ст. ($p = 0,005$). Средние значения ДАД также имели достоверное снижение: на 1,8% в дневные часы и на 14,6% в ночные часы от исходного ($p = 0,005$ и $p = 0,02$). Наблюдалось значительное снижение показателей нагрузки давлением в дневные и ночные часы. ИВ САД и ИВ ДАД уменьшились на 75% и 63,9% соответственно днем ($p = 0,05$ и $p = 0,0005$) и на 96,9% и 69,9% соответственно в ночные часы по сравнению с исходными значениями ($p = 0,0001$ и $p = 0,001$). В результате терапии алискиреном СИ САД пациентов СКВ возрос более, чем в 2,5 раза, а СИ ДАД увеличился на 35,7% ($p = 0,0001$ и $p = 0,05$).

Таким образом, 40% больных перешли из категории non-dipper в категорию нормального типа суточного профиля «dipper». В группе больных ГБ среднее значение САД в дневные часы снизилось на 1 мм рт. ст. (при $p < 0,05$). Наблюдалось достоверное снижение средних показателей САД и ДАД в ночные часы на 9,5 мм рт. ст. и 5,5 мм рт. ст. соответственно при $p < 0,001$, а также снижение показателей нагрузки давлением в дневные и ночные часы. Индекс времени САД снизился на 13,3 % днем и на 42,4 % ночью, снижение индекса времени ДАД составило 41,5 % днем и 43 % ночью (при $p < 0,05$). Достоверного уменьшения среднего ДАД в дневные часы, СИ САД и ДАД выявлено не было, хотя наблюдалась тенденция к снижению данных показателей. В обеих группах отмечена хорошая переносимость алискирена. Диарея, как наиболее частый побочный эффект, наблюдалась у 2 (3,2 %) пациентов в начале лечения и не требовала отмены препарата. Необходимость прекращения терапии возникла лишь у одного пациента из-за развития выраженной артериальной гипотонии.

Исходные показатели уровня ренина плазмы у пациентов с СКВ составили 1,66[0,48;1,8] нг/л/ч, у больных с ГБ 0,75 [0,2;1,68] нг/л/ч. Уровень ренина после лечения снизился до 0,1[0,06;0,36] в группе СКВ ($p=0,04$), у больных ГБ ренин снизился до 0,12[0,08;0,15] нг/л/ч($p=0,04$). В группе СКВ и больных ГБ не было обнаружено достоверных изменений уровня сывороточного

креатинина, скорости клубочковой фильтрации и клиренса креатинина. Однако наблюдалась некоторая тенденция к повышению креатинина в сыворотке крови в пределах нормальных значений на фоне лечения алискиреном.

Обсуждение

Полученные данные продемонстрировала достоверное снижение суточных показателей АД у пациентов системной красной волчанкой и гипертонической болезнью на терапии алискиреном в течение 6 недель. Особенную эффективность алискирен показал в нормализации САД и ДАД в ночные часы. Ночная гипертензия считается более неблагоприятной по прогнозу развития кардиоваскулярных событий, она ассоциирована с более частым поражением почек и других органов-мишеней. Алискирен значительно снизил показатели нагрузки давлением в дневные и особенно в ночные часы у пациентов с СКВ - ИВ САД и ИВ ДАД уменьшились на 75% и 63,9% днем соответственно ($p = 0,05$ и $p = 0,0005$), и на 96,9% и 69,9% в ночные часы по сравнению с исходными значениями ($p = 0,0001$ и $p = 0,001$). Благодаря лечению алискиреном суточный профиль нормализовался у 40% пациентов.

По сравнению с пациентами ГБ гипотензивный эффект алискирена был менее выражен: в ночные часы среднее САД уменьшилось на 7,5 % (при $p < 0,001$), а среднее ДАД на 7 % ($p < 0,001$). Степень снижения показателей нагрузки давлением САД и ДАД было выражено меньше чем у больных с СКВ, однако терапия алискиреном достаточно эффективно снизила ИВ САД и ДАД в ночные часы на 41,5% и 43 % соответственно (при $p < 0,05$). Данные результаты согласуются с показателями других исследований, где алискирен продемонстрировал большую эффективность у пациентов с вторичной артериальной гипертензией на фоне основной нефрологической патологией, нежели чем у больных с эссенциальной гипертонической болезнью [4]. Патогенез гипертонической болезни более разнороден, и не всегда активация РААС является основополагающим механизмом повышения АД [5]. Уровень ренина в группе ГБ был значительно меньше, чем у больных СКВ и находился в пределах нижней границы нормы. Следовательно, точки приложения для работы прямого ингибитора ренина были значительно ограничены. Прием алискирена в течение 6 недель не

оказал отрицательного влияния на скорость клубочковой фильтрации и клиренс креатинина как у пациентов с системной красной волчанкой, так и у больных гипертонической болезнью. У 2 пациентов (3,2%) пациентов в начале лечения развилась кратковременная диарея, которая не потребовала отмены препарата. Выраженная артериальная гипотония возникла у одной пациентки с коморбидной патологией (хроническая сердечная недостаточность, сахарный диабет 2 типа). Прием алискирена у пациентов с сахарным диабетом остается спорным вопросом. Ряд исследователей считает, что для данной группы пациентов алискирен не является препаратом выбора, потому как несмотря на хороший гипотензивный эффект он не улучшает прогноз по долгосрочным кардиоваскулярным событиям, при этом увеличивает риск гиперкалиемии [6]

Заключение

Таким образом, алискирен у больных СКВ продемонстрировал более выраженный гипотензивный эффект, чем у пациентов с эссенциальной гипертонической болезнью. Особую эффективность прямой ингибитор ренина показал в снижении САД и ДАД в ночные часы, а также в нормализации суточного профиля АД, при чем достоверные положительные результаты выявлялись уже на 6-й недели лечения. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности назначения алискирена для лечения АГ у больных СКВ.

Библиографический список

1. Munguia-Realpozo P, Mendoza-Pinto C, Sierra Benito C, et al. Systemic lupus erythematosus and hypertension. *Autoimmun Rev.* 2019; 18(10):102371. doi:10.1016/j.autrev.2019.102371.
2. Сапаева З.А., Жабборов О.О., Ходжанова Ш.И., Кадилова Ш.А. Влияние антигипертензивных препаратов на показатели артериальной гипертензии у больных с системной красной волчанкой. 2019. Экономика и социум. №10(65). С:266-271
3. Юнонин И.Е., Столярова С.А., Виноградов А.А. Влияние гиперренинемии на суточный профиль артериального давления у больных системной красной волчанкой// *Opinion Leader.* – 2019. -№4. – С 32-34.

4. Жмуров Д.В., Жмуров В.А., Яркова В.Г., Толстоухова Н.В. Эффективность прямого ингибитора ренина (алискирен) у больных с хронической болезнью почек и артериальной гипертензией// Академическая наука - проблемы и достижения. Материалы XV международной научно-практической конференции. - 2018. - С.11-13.

5. Абдрахманова А.И., Амиров Н.Б., Цибулькин Н.А., Фролова Э.Б., Гайфуллина Р.Ф., Неотложная помощь при артериальной гипертензии в клинике внутренних болезней // Вестник современной клинической медицины. - 2018. - Т.11. - Вып.5. -С:86-100.

6. Zheng SL, Roddick AJ, Ayis S. Effects of aliskiren on mortality, cardiovascular outcomes and adverse events in patients with diabetes and cardiovascular disease or risk: A systematic review and meta-analysis of 13,395 patients. Diab Vasc Dis Res. 2017;14(5):400-406. doi:10.1177/1479164117715854

УДК 796.01:612

Р.Б. Цаллагова, А.А. Доможилова

ОЦЕНКА КОЖНОЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ У СПОРТСМЕНОВ-ЕДИНОБОРЦЕВ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ПРОБЫ

Аннотация. В работе представлены результаты оценки скорости кровотока с помощью метода высокочастотной доплерографии у единоборцев и здоровых нетренированных испытуемых при проведении пробы с задержкой дыхания. Было определено, что в постгиповентиляционный период у спортсменов наблюдаются различные типы реакций на тестирующее воздействие, что позволяет судить об особенностях активности вегетативной нервной системы.

Ключевые слова: единоборства, скорость кровотока, микроциркуляция, проба с задержкой дыхания, высокочастотная доплерография.

ASSESSMENT OF SKIN MICROCIRCULATION IN COMBAT ATHLETES DURING RESPIRATORY TEST

Abstract. The present study aimed to characterize and contrast the dynamics of changes in microcirculation in combat athletes and healthy volunteers during respiratory test. Our results demonstrate that in athletes group observed different types of reactions in the post-hypoventilation period.

Keywords: combat athletes, medium linear blood flow velocity, respiratory test, microcirculation, high-frequency ultrasonic dopplerography.

Введение

Систематическая подготовка в большинстве видов спорта, в том числе и в единоборствах, приводит к функциональным изменениям на различных уровнях сердечно-сосудистой системы [1, 2]. В этой связи можно предполагать, что поскольку микроциркуляторное звено ассоциировано с основными обменными процессами, именно оценка капиллярного кровотока может дать общую характеристику адаптационным преобразованиям на системном уровне. Таким образом, очевидна перспективность практического применения в рамках медико-биологического сопровождения спортсменов современных неинвазивных методов исследования микроциркуляции.

Исходя из вышесказанного, целью исследования являлась оценка микроциркуляции у спортсменом-единоборцев и здоровых нетренированных испытуемых при выполнении пробы с задержкой дыхания.

Методика

В исследовании принимали участие спортсмены (квалификация I разряд – Кандидат в Мастер спорта), специализирующиеся в единоборствах ($n=9$, возраст – $19,6 \pm 1,0$ лет), и здоровые нетренированные добровольцы ($n=10$, контрольная группа, возраст – $19,3 \pm 1,8$ лет). Регистрацию кровотока проводили в области ногтевого валика I пальца правой руки в положении сидя с помощью прибора Мини-макс-Допплер-К (ООО «СП Минимакс», г. Санкт-Петербург). В

качестве функционального теста использовалась проба с 30-секундной задержкой дыхания, которая выполнялась по общепринятой методике [3]. Интерпретация результатов исследования была выполнена на основании анализа показателя средней линейной скорости по сечению сосуда (V_{am} , см/с) в состоянии покоя, во время 30-секундной задержки дыхания и одну минуту после нее.

Результаты и обсуждение

В состоянии покоя исследуемый показатель микроциркуляции у спортсменов составил $1,00 \pm 0,41$ см/с, а у нетренированных испытуемых – $0,93 \pm 0,53$ см/с. Задержка дыхания в двух рассматриваемых группах приводила к снижению скорости кровотока по отношению к исходным значениям в среднем на 30% у представителей единоборств и на 40% в группе контроля ($p < 0,05$). Индивидуальная динамика изменений показателя V_{am} во время проведения пробы у спортсменов представлена на рис. 1.



Рис. 1. Показатели средней линейной скорости по сечению сосуда (V_{am} , см/с) в состоянии покоя, во время 30-секундной задержки дыхания и одну минуту после нее у спортсменов-единоборцев

Следует подчеркнуть, что в контрольной группе у всех испытуемых наблюдалось снижение рассматриваемого показателя, в

то время как в группе спортсменов был отмечен прирост кровотока после задержки дыхания у одного из участников исследования.

В постгиповентиляционный период в группе единоборцев у шестерых испытуемых отмечался выраженный прирост показателя скорости кровотока, у двоих – незначительное изменение его, а у одного спортсмена – регистрировалось снижение скорости, в сравнении со значениями, полученными во время задержки дыхания. В свою очередь, в группе контроля у всех испытуемых отмечался прирост кровотока, при этом у двоих из них реакция на пробу была недостаточной (изменения исследуемого показателя составили менее 10%). Известно, что применяемая в исследовании проба является информативной для анализа состояния механизмов вегетативной регуляции кровотока [4] и может быть использована в качестве способа оценки резервов микроциркуляции у спортсменов различных специализаций [5].

Таким образом, полученные нами с помощью метода высокочастотной ультразвуковой доплерографии данные о типе реакции на тестирующее воздействие у единоборцев могут быть расценены как индивидуальные особенности состояния периферического звена сердечно-сосудистой системы и являются информативным критерием оценки функционального состояния.

Библиографический список

1. Двурекова, Е.А. Диагностика функционального состояния тканевого кровотока спортсменов-единоборцев с помощью лазерной доплеровской флоуметрии / Е.А. Двурекова, С.С. Артемьева // Ученые записки университета им. П.Ф. Лесгафта. – 2015. – № 10 (128). – С. 57-61.
2. Функциональное состояние и адаптационные резервы организма / Похачевский А.Л. [и др.] // Вестник Новгородского государственного университета им. Ярослава Мудрого. – 2006. – № 35. – С. 11-15.
3. Петрищев, Н.Н. Способ определения реактивности сосудов микроциркуляторного русла и вазомоторной функции эндотелия с использованием высокочастотной доплерографии / Н.Н. Петрищев, Е.Ю. Васина. – СПб: Издательство Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. академика И.П. Павлова, 2009. – 20 с.

4. Крупаткин, А.И. Функциональная диагностика микроциркуляторно-тканевых систем: Колебания, информация, нелинейность. Руководство / А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров. – М. : ЛЕНАНД, 2016. – 496 с.

5. Изменения микроциркуляции крови как показатель адаптации к регулярным физическим нагрузкам у спортсменов / В.И. Сысоев [и др.] // Теория и практика физической культуры. – 2008. – № 6. – С. 66-70.

УДК 535.8; 577.352.336; 577.325.3

*Луговцов А.Е., Незнанов А.И., Каданова И.М.,
Гурфинкель Ю.И., Шин С., Приезжев А.В.*

МИКРОРЕОЛОГИЯ И МИКРОЦИРКУЛЯЦИЯ КРОВИ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Аннотация. Сердечно-сосудистые и метаболические заболевания, такие как артериальная гипертензия и сахарный диабет, могут приводить к нарушению микрореологии и микроциркуляции крови. Используя *in vitro* методы диффузного рассеяния света, лазерной дифрактометрии, захвата и манипуляции лазерной ловушкой, а также *in vivo* метод цифровой капилляроскопии, было показано, что у пациентов с артериальной гипертензией и сахарным диабетом способность эритроцитов агрегировать повышена по сравнению с контрольной группой.

Ключевые слова: агрегация, деформируемость, эритроциты, артериальная гипертензия, сахарный диабет.

*Lugovtsov A.E., Neznanov A.I., Kadanova I.M., Gurfinkel Yu.I.,
Shin S., Priezzhev A.V.*

BLOOD MICRORHEOLOGY AND MICROCIRCULATION IN NORM AND PATHOLOGY

Summary: Cardiovascular and metabolic diseases such as arterial hypertension and diabetes mellitus can lead to impairment of

blood microrheology and microcirculation. Using *in vitro* measurement techniques of diffuse light scattering, laser diffractometry, laser trapping and manipulation and *in vivo* digital capillaroscopy we showed that in arterial hypertensive and diabetes mellitus patients, the ability of red blood cells (RBCs) to aggregate is enhanced relative to the control group.

Keywords: aggregation, deformability, red blood cells, arterial hypertension, diabetes mellitus.

INTRODUCTION

Nowadays the number of people suffering from diabetes mellitus and cardiovascular diseases (arterial hypertension, coronary heart disease) increases rapidly mainly due to unhealthy nutrition and lifestyle. Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease characterized by high blood sugar levels over a prolonged period. Arterial hypertension (AH) is a long-term medical condition in which the blood pressure in the arteries is persistently elevated. These diseases can lead to severe alterations of vitally important systems of the human organism including the cardiovascular system and resulting in damage to blood vessels and capillaries, impairment of blood hemorheology and microcirculation. Enhanced aggregation of RBCs is one of key factors, which determines the blood flow and thereby affects the blood rheology [1]. The ability of RBCs to deform in shear flow conditions is the second major property that affects blood microcirculation. Alterations in these properties lead to changing the blood viscosity and, as a consequence, to changes in capillary blood flow. This can lead to significant impairment of blood function, which increases a risk of occurrence of vascular concomitant diseases, and even the mortality. The main goal of this work is to assess the deformability and aggregation properties, forces of pair aggregation of RBCs drawn from patients suffering from AH, DM and from healthy donors using *in vitro* techniques of diffuse light scattering, laser diffractometry, laser trapping and manipulation and estimate the blood capillary velocity by *in vivo* digital capillaroscopy.

MATERIALS AND METHODS

In this work, complex laser-optics studies of the factors determining the capillary blood flow in patients suffering from AH

and DM were conducted. Laser aggregometry and diffractometry techniques, which are implemented in the laser aggregometer-deformometer device Rheoscan AnD-300 (Republic of Korea) [2], were used to conduct *in vitro* measurements of aggregation and deformability characteristics of the RBCs in big ensembles of cells. Several parameters were measured: RBC deformability index dependance on shear stress, hydrodynamic strength of RBC aggregates - critical shear stress (CSS), characteristic time of RBC aggregates formation, aggregation index (percentage of the RBC participating in the aggregation during first 10 seconds of spontaneous aggregation process) [3, 4]. Double-channeled optical tweezers were used for *in vitro* measuring the aggregation speed as well as interaction forces during RBC doublet formation on cellular level [5]. To visualize and quantitatively evaluate the capillary blood flow *in vivo* non-invasive capillaroscopy measurements in the nailfold vessels were conducted [3].

All *in vitro* measurements were performed with human blood drawn from patients with AH (102 people) and DM (22 people) and practically healthy volunteers – control (18 people). Blood samples were stabilized with EDTA to prevent blood from clotting. The measurements were performed within two hours after blood sampling.

RESULTS AND CONCLUSION

It was shown that in AH and DM patients, the ability of erythrocytes to deform is slightly reduced while the aggregation speed and forces of the cells interaction and CSS are significantly increased relative to the control group. The blood microcirculation in nailfold capillaries is impaired as well.

Basing on the obtained results one can conclude that laser aggregometry and optical trapping and manipulation are appropriate techniques for estimating the blood aggregation properties in whole blood samples and on the level of individual cells. We showed that the alterations of the parameters measured *in vivo* and *in vitro* for patients suffering from these diseases are interrelated. Good agreement between the results obtained with different techniques, and their applicability for the diagnostics of abnormalities of rheological properties of blood were demonstrated.

The work was supported by Russian Foundation for Basic Research (grant No. 19-52-51015).

REFERENCES

1. Baskurt O.K., Neu B., Meiselman H. Red blood cell aggregation. Boca Raton : CRC Press, 2019.
2. Shin S., Yang Y., Suh J.-S. Measurement of erythrocyte aggregation in a microchip stirring system by light transmission // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2009. V. 41(3). PP. 197-207.
3. Lugovtsov A., Gurfinkel Y., Ermolinskiy P., Maslyanitsina A., Dyachuk L., Priezzhev A. Optical assessment of alterations of microrheologic and microcirculation parameters in cardiovascular diseases // Biomed. Opt. Express. 2019. V. 10. PP. 3974-3986.
4. Priezzhev A.V., Firsov N.N., Lademann J. Light backscattering diagnostics of RBC aggregation in whole blood samples // Handbook of Optical Biomedical Diagnostics, Editor V. Tuchin, Chapter 11 (PP. 651 – 674). Washington: SPIE Press, 2012.
5. Lee K., Khokhlova M.D., Lyubin E. V., Priezzhev A. V., Meglinsky I., Fedyanin A.A. Optical tweezers study of red blood cell aggregation and disaggregation in plasma and protein solutions // J. Biomed. Opt. 2016. V. 21. PP. 035001-1-035001-10.

УДК 535.8; 577.352.336; 577.325.3

*А.Н. Семенов, Е.А. Шишин, А.Е. Луговцов, П. Ермолинский,
Б. Якимов, А. Муравьев, С. Шин, А.В. Приезжев*

БИОФИЗИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФИБРИНОГЕНА И МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ИХ АГРЕГАЦИИ: ОЦЕНКА С ОПТИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Аннотация: Механизмы индуцированной фибриногеном агрегации эритроцитов до конца не изучены. Одна из моделей предполагает адсорбцию молекул фибриногена на мембране эритроцитов, приводящую к сращиванию клеток в агрегаты. В данной работе мы представляем результаты оценки адсорбции

© А.Н. Семенов, Е.А. Шишин, А.Е. Луговцов, П. Ермолинский, Б. Якимов, А. Муравьев, С. Шин, А.В. Приезжев, 2021

фибриногена на мембране эритроцитов с использованием оптических методов.

Ключевые слова: эритроциты, фибриноген, флуоресцентная микроскопия, цитометрия.

A.N. Semenov, E.A. Shirshin, A.E. Lugovtsov, P.B. Ermolinskiy, B.P. Yakimov, A.V. Muravyov, S. Shin, A.V. Priezzhev ²⁴

BIOPHYSICAL ASPECTS OF THE INTERACTION BETWEEN FIBRINOGEN AND MEMBRANE OF ERYTHROCYTES AT THEIR AGGREGATION: ASSESSMENT WITH OPTICAL TECHNIQUES

Abstract. The mechanisms of fibrinogen-induced RBC aggregation are not studied completely. One of the models suggests the adsorption of fibrinogen molecules on RBC membrane, leading to the bridging of cells in aggregates. In this work we present the results of the assessment of fibrinogen adsorption onto RBC membrane using optical techniques.

Keywords: erythrocytes, fibrinogen, fluorescence microscopy, cytometry.

INTRODUCTION

Fibrinogen is the major determinant of RBC aggregation (RBC-A) in blood plasma [1,2]. Despite the rheological significance, the mechanisms of fibrinogen-induced RBC-A are not completely studied [3,4]. One of the discussed models is the adsorption of fibrinogen macromolecules onto RBC membrane, leading to the bridging of cells in aggregate when RBC contact with each other [5]. There were reported several limitations of this “molecular bridging” model [6]. One of the most common problem is the question of adsorption of fibrinogen macromolecules onto RBC membrane. In the present report we present the results of the assessment of fibrinogen adsorption onto RBC membrane using optical techniques.

MATERIALS AND METHODS

Blood samples in a volume of 10 μ l were taken from healthy male donor by finger-pricking method using a sterile lancet. RBC were washed three times in phosphate-buffered saline (pH 7.4). After that RBC were put in the solution of fibrinogen, labelled with fluorescent marker Alexa488, and incubated at 37°C during 1-2 hours for microscopy measurements and during 30 minutes for flow cytometry experiments.

RESULTS

The microscopic photographs of different cells at different concentrations of fibrinogen-Alexa488 conjugate (2.0, 2.5 and 3.0 mg/ml) are presented in fig. 1 (adopted from Supplementary Information from Semenov et al. [7]).

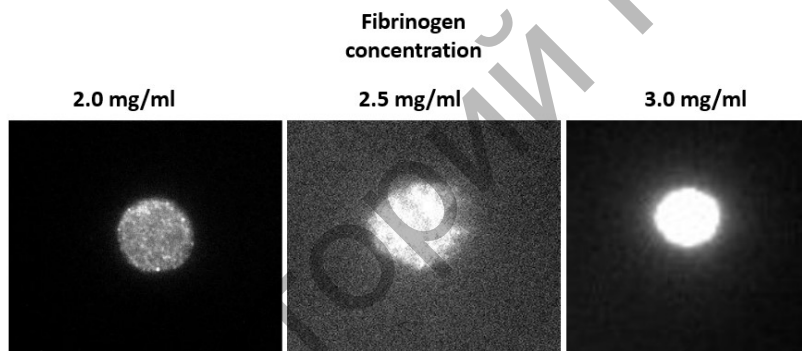


Figure 1. The microscopic images of RBC, incubated in the solution of fibrinogen, labelled with Alexa488 (Thermo Fisher, F13191) at different concentrations of conjugate. The images are adopted from Semenov et al. [7].

The results of the fluorescent microscopy measurements of fibrinogen-Alexa488 adsorption on RBC membrane were verified by flow cytometry. The results are presented in fig. 2 (adopted from [7]). We can see, that the number of counts for the “control Alexa488-labeled fibrinogen” (brown bars in fig. 2), which represents erythrocytes stained with the fibrinogen-Alexa488 conjugate, were found to be more than 2 times higher than the values, recorded for the “control (not stained)” sample (blue diagrams in fig. 2), which represents the autofluorescent signal from erythrocytes. This result suggests that fluorescently labeled fibrinogen macromolecules adsorb onto the

RBC membrane surface. To study the specificity of the fibrinogen adsorption on RBC membrane, prior to the staining with fibrinogen-Alexa488, we exposed the washed RBC to the effects of fibrinogen-binding receptors inhibitors. It can be seen, that the presence of fibrinogen-binding inhibitor in the solution before the staining led to the significant decrease in the fluorescent signal, detected in the FITC channel of the cytometer (**** $p < 10^{-4}$, Kruskal–Wallis H-test).

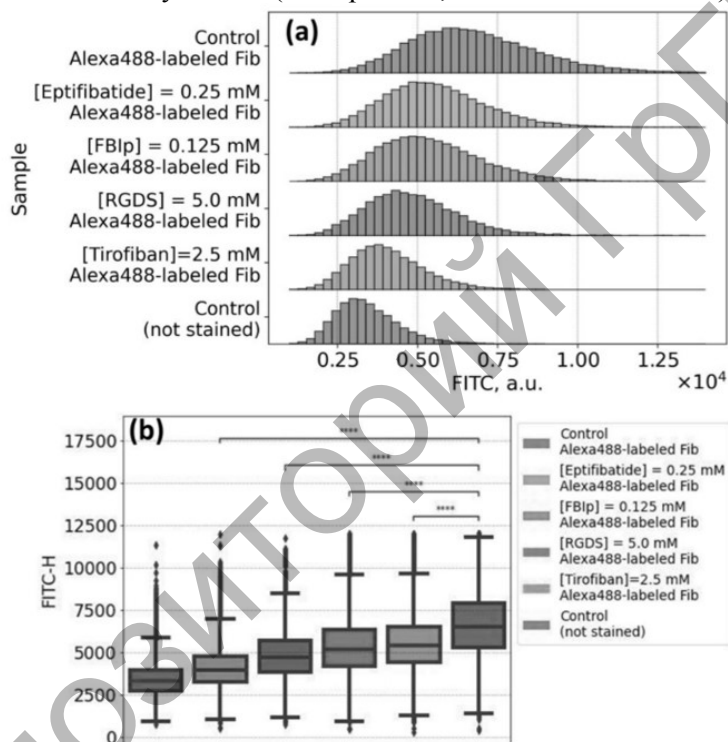


Figure 2. The results of the flow cytometry assay of the adsorption of fibrinogen, labelled with Alexa488, at concentration 3.0 mg/ml, on the membrane of RBC. The signal was detected in FITC-H channel of the cytometer (excitation 488 nm; emission 525 (40) nm): (a) signal distributions; (b) signal values. The results of the measurements of the effects of fibrinogen-binding inhibitors are also presented. **** $p < 10^{-4}$, Kruskal–Wallis H-test. Adopted from authors article [7].

CONCLUSIONS

Despite the localization of the negative charge on both fibrinogen molecules and RBC membrane, we can clearly observe the adsorption of fibrinogen on RBC. Generally there are two possible mechanisms of this process: non-specific interactions and specific interactions. Non-specific interactions, which include primary hydrophobic interactions and hydrogenic bonds, may arise and oppose the electrostatic repulsions between negative charges of fibrinogen and RBC membrane. However, our results on the effects of fibrinogen-binding inhibition (fig. 2), which is in agreement with results of other groups [8–10], allow to suggest that the specific character of the adsorption of fibrinogen prevails. The specificity of the interaction supposes the existence of the fibrinogen receptor on the surface of RBC membrane. Such receptor is able to recognize the specific fragments of fibrinogen macromolecule and form chemical bonds despite the electrostatic repulsion. Modern studies of the specific interactions between fibrinogen and RBC membrane characterize such receptor as a glycoprotein receptor class IIb/IIIa. These receptors play an important role in the aggregation of platelets at their activation by fibrinogen. Further studies on the structure and functioning of the fibrinogen-binding receptor on RBC membrane are very important because they potentially present novel opportunities to regulate the rate of fibrinogen adsorption on RBC membrane and therefore correct the hemorheological disorders caused by elevated fibrinogen-induced RBC aggregation.

The work was supported by Russian Foundation for Basic Research (grant № 19-52-51015)

REFERENCES

1. Baskurt O.K., Neu B., Meiselman H. Red blood cell aggregation. Boca Raton: CRC Press, 2012. 288 p.
2. Lee K. et al. Optical tweezers study of red blood cell aggregation and disaggregation in plasma and protein solutions // J. Biomed. Opt. 2016. Vol. 21, № 3. P. 035001-1-035001-035010.
3. Baskurt O.K., Meiselman H.J. Blood rheology and hemodynamics // Semin. Thromb. Hemost. 2003. Vol. 29, № 5. P. 435–450.

4. Meiselman H.J. Red blood cell aggregation: 45 Years being curious // *Biorheology*. 2009. Vol. 46, № 1. P. 1–19.
5. Minetti G. et al. Red cell investigations: Art and artefacts // *Blood Rev. Elsevier Ltd*, 2013. Vol. 27, № 2. P. 91–101.
6. Zhang Z.W., Neu B. Role of macromolecular depletion in red blood cell adhesion // *Biophys. J.* 2009. Vol. 97, № 4. P. 1031–1037.
7. Semenov A.N. et al. Assessment of fibrinogen macromolecules interaction with red blood cells membrane by means of laser aggregometry, flow cytometry, and optical tweezers combined with microfluidics // *Biomolecules*. 2020. Vol. 10, № 10.
8. Lominadze D., Dean W.L. Involvement of fibrinogen specific binding in erythrocyte aggregation // *FEBS Lett.* 2002. Vol. 517, № 1–3. P. 41–44.
9. Carvalho F.A. et al. Atomic force microscopy-based molecular recognition of a fibrinogen receptor on human erythrocytes // *ACS Nano*. 2010. Vol. 4, № 8. P. 4609–4620.
10. Sokolova I. et al. Glycoprotein IIB-IIIa inhibitor, monafam decelerate the early phase of red blood cells aggregation // *J. Cell. Biotechnol.* 2016. Vol. 2, № 1. P. 15–22.

УДК 535.8; 577.352.336; 577.325.3

*Ермолинский П.Б., Луговцов А.Е., Яя Ф.,
Ли К., Вагнер К., Приезжев А.В.*

ЗАВИСИМОСТЬ МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ ОТ ВОЗРАСТА ЭРИТРОЦИТОВ

Аннотация: Процесс агрегации эритроцитов сильно влияет на вязкость крови и гемореологию крови в целом. Целью данной работы было оценить изменение параметров агрегации эритроцитов при их старении *in vivo*. Лазерный пинцет использовался для захвата одиночных эритроцитов разных возрастов и измерения сил между этими клетками. Результаты показывают

увеличение силы агрегации с возрастом эритроцитов и дают новую информацию об изменении их свойств при старении.

Ключевые слова: эритроциты, лазерный пинцет, агрегация эритроцитов, старение эритроцитов, сила агрегации.

*Ermolinskiy P.B., Lugovtsov A.E.,
Yaya F., Lee K., Wagner C., Priezzhev A.V.*

DEPENDENCE OF BLOOD MICRORHEOLOGIC PROPERTIES ON RED BLOOD CELL AGE

SUMMARY: The process of red blood cell (RBC) aggregation highly influences the blood viscosity and hemorheology in general. The aim of this work was to estimate the changes of RBC aggregation parameters under in vivo RBC aging. Laser tweezers were used to trap single RBC separated to different ages and to measure the forces between these cells. The results show the increasing of aggregation force with RBC aging. These results help us to understand the changes of RBC aggregation properties clearer.

Keywords: red blood cells, laser tweezers, RBC aggregation, RBC aging, aggregation force.

INTRODUCTION

Red blood cells (RBC) aggregation highly influences microcirculation of blood and impacts human health in general [1]. Aggregation properties of blood can alter due many various factors: the composition of blood plasma, temperature of blood, age of RBC and many others [1]. In this work, differences in the aggregation properties of the RBC separated by age (density) were investigated at cellular level. The dependence of these properties on RBC age has not been studied in detail yet. The obtained data allow us to better understand the contribution of the cellular factors dependent on the cells age to RBC aggregation. This is important for the development of future clinical applications.

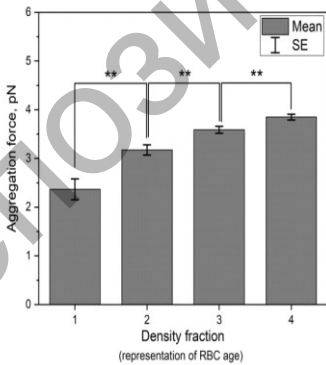
METHODS

To perform the separation of RBC by age, the method of cells separation by density using "Percoll" solution was used. This method is applicable due to the dependence of RBC density on their age [2]. The

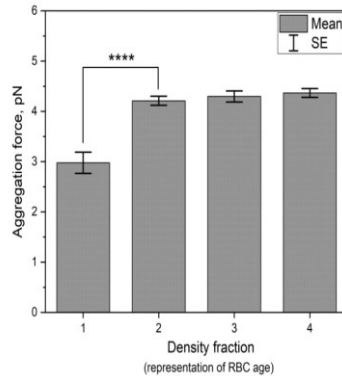
RBC were separated into four different age populations [2]. The RBC of different ages were separately resuspended in autologous plasma and dextran 70 kDa (50 mg/mL) solution. The experiments were conducted in vitro with the samples of blood drawn from five healthy volunteers. Holographic laser tweezers based on the Nd:YAG diode pumped solid-state laser ($\lambda = 1064$) were used to trap two cells simultaneously and to measure the aggregation force (AF) between them [3]. AF is the minimum force required to prevent spontaneous aggregation of two overlapped RBC. The higher the AF, the higher the RBC aggregation.

RESULTS

Figure1. shows the dependence of the AF on the density fraction which corresponds to a certain age of RBC in a way that the higher the density fraction number the older the cells (fraction №1 - the youngest RBC, fraction №4 - the oldest RBC). The figure shows the combining of the aggregation force statistics from 5 different healthy volunteers. Student's T-Test for autologous plasma data (figure 1(a)) gives us the value $p < 0.01$ between all fractions. At the same time student's T-Test for dextran solution data (figure 1(b)) gives us the value $p < 0.0001$ only between the first and other fractions. The general trend is that the aggregation force increases with increasing of RBC age.



(a)



(b)

Figure 1. The dependence of the aggregation force on the density fraction for RBC (a) in autologous plasma and (b) dextran 70 kDa solution (50 mg/ml). The higher the density fraction number the older the cells. Each point corresponds to one measurement on a pair of RBCs. Errors here are standard errors.

CONCLUSIONS

Thus, we can conclude that the RBC aggregation process alters for RBC of different ages. The older the RBC, the higher the aggregation force between them and the more they aggregate. These results will help us to better understand the age changes of RBC and the changes of their aggregation properties.

The work was supported by Russian Foundation for Basic Research (grant No. 19-52-51015).

REFERENCES

1. Baskurt O.K., Neu B., Meiselman H. Red Blood Cell Aggregation. Boca Raton: CRC Press, 2012. 288 p.
2. Ermolinskiy P. et al. Effect of red blood cell aging in vivo on their aggregation properties in vitro: measurements with laser tweezers // Appl. Sci. 2020. Vol. 10, P. 7581-1-7581-10.
3. Lee K. et al. Optical tweezers study of red blood cell aggregation and disaggregation in plasma and protein solutions // J. Biomed. Opt. 2016. Vol. 21, № 3. P. 035001-1-035001-035010.

УДК 535.8; 577.352.336; 577.325.3

*А.А. Капков, А.Н. Семенов, П. Б. Ермолинский,
А.Е. Луговцов, А.В. Приезжев*

ПРИМЕНЕНИЕ ЛАЗЕРНО-ОПТИЧЕСКИХ И МИКРОФЛЮИДНЫХ МЕТОДОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КЛЕТОК КРОВИ В СРЕДЕ С ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ

Аннотация: Взаимодействие клеток эндотелия и эритроцитов имеет важное значение при различных заболеваниях человека, например, сахарном диабете. Одно из главных таких взаи-

модействий — адгезия эритроцитов к эндотелиальному слою. Адгезия может препятствовать движению эритроцитов в потоке по сосудам в организме человека. В данной работе мы представим результаты нашего исследования о влиянии эндотелиальных клеток на гидродинамическую прочность агрегатов клеток крови, а также деформируемость эритроцитов *in vitro*, выполненного с помощью лазерных методов.

Ключевые слова: эритроциты, эндотелиальные клетки, сахарный диабет, адгезия, лазерные методы

A.A. Kapkov, A. N. Semenov, P.B. Ermolinskiy, A.E. Lugovtsov, A.V. Priezzhev

APPLICATION OF LASER-OPTIC AND MICROFLUIDIC TECHNIQUES FOR THE STUDY OF BLOOD CELLS INTERACTATION IN THE MEDIA CONTAINING ENDOTHELIAL CELLS

Annotation. The interaction between endothelium cells and red blood cells (RBC) plays a crucial role in different human diseases, e.g., diabetes mellitus. The main part of this interaction is the erythrocyte adhesion to endothelium layer of the vessel. The adhesion can interfere RBC movements in the flow in human vessel. In this work, we present the results of our study of the effect of the endothelial cells on the hydrodynamic strength of RBC aggregates and deformability of the RBC *in vitro*, performed by laser techniques.

Keywords: red blood cells, endothelial cells, diabetes mellitus, adhesion, laser techniques

INTRODUCTION

Vascular endothelial cells (EC) constitute the inner surface of arteries, veins and capillaries and therefore directly interact with different components of blood. The interaction between EC and red blood cells (RBC) is important because many hemorheological disorders are accompanied with the elevated adhesion of RBC onto vessel endothelium. The mechanisms of this pathology are not completely studied yet [1-3]. Laser techniques allow for a non-invasive study of the features of the interaction between EC and RBC [4]. This work was aimed at implementation of optical techniques to

investigate *in vitro* the effects of EC on the RBC microrheologic properties, in particular, on their spontaneous aggregation and shearing deformation.

MATERIALS AND METHODS

We performed our experiments with fresh blood samples drawn from a cubital vein of a healthy volunteer. The human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) were cultured and grown in Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences. Then the cells were placed inside the microfluidic vessels, that are used in the optic techniques. Subsequently, to activate EC, Tumor necrosis factor alpha (TNF) and Adenosine diphosphate (ADF) activators were used as in refs [4-7]. In our experiments, we used light scattering techniques to conduct the measurements. We used laser aggregometry based on diffuse light scattering from whole blood samples which allows to obtain the critical shear stress (CSS) parameter, which characterizes the hydrodynamic strength of RBC aggregates [8]. By analyzing the dependency of laser light, scattered by RBC suspension under different shear-stress, we measured CSS of RBC aggregates in the microchannel covered with endothelial cells layer. To assess the effects of endothelium on RBC deformability we used laser ektacytometry technique, which allows for measuring the RBC elongation index in shear stress flow. All measurements were conducted with blood samples from 10 donors. All experiments were performed at 37.

RESULTS

The experiments carried out using laser aggregometry showed a decrease in the parameter CSS in the case of EC covered channel wall (about 40-12 % lower than in the control). As for the control sample we used similar microvessels without the administration of the EC. We performed measurements with control vessels, then with the vessels covered with the EC before and after activation. The results are presented in Fig.1:

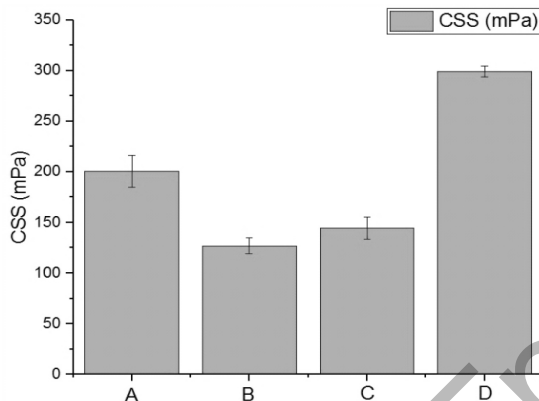


Figure 1. Left to right: parameter CSS, measured in control vessels (A) , and in vessels covered with the endothelial cells without activation (B), activated with TNF (C), activated with ADF endothelium.(D)

In this histogram, it can be seen that the administration of the endothelial cells into the vessels without activation leads a decrease in the parameter CSS. Activation of EC with TNF results in small increase in CSS (16 4% higher than in the control) while activation of EC with ADF results in crucial growth of CSS (50 7% higher than in the control).

The second histogram shows changes in deformability of RBC depending on the presence of EC. We can see that the ability of erythrocyte to deform under shear stress slightly decreases under the presence of EC (13 5% lower than in the control).

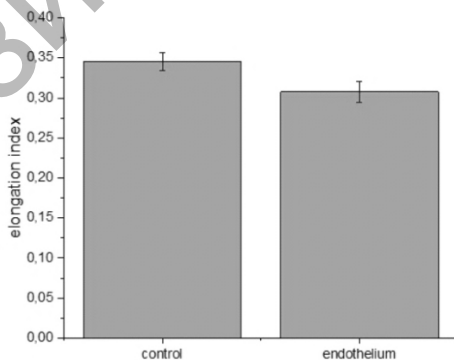


Figure 2. Alterations in RBC elongation index measured with and without endothelium cells

CONCLUSIONS

The parameter CSS was obtained and compared with control value. It was found that there is a decrease in CSS if RBC move along the vessels with endothelium layer covered walls. However, if EC were previously activated, CSS showed an increase by about 16.4% and 50.7% as compared to non-activated cells. RBC deformability under shear-stress was also studied and showed a decrease in RBC elongation index in the case of presence of EC (13.5% lower than in the control). We believe this process is due to RBC adhesion to endothelial layer. Our future work will be aimed at more detailed study of the interaction between activated EC and different blood components.

The work was supported by Russian Foundation for Basic Research (grant N° 19-52-51015).

REFERENCES

1. Wautier J. L., Wautier M. P., Molecular basis of erythrocyte adhesion to endothelial cells in diseases // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2013. Vol. 53. №. 1–2. PP. 11–21.
2. Yedgar S., Kaul D. K., Barshtein G. RBC adhesion to vascular endothelial cells: More potent than RBC aggregation in inducing circulatory disorders // Microcirculation. 2008. Vol. 15. №. 7. PP. 581–583.
3. Kucukal E., Quinn E. Red blood cell adhesion to ICAM-1 is mediated by fibrinogen and is associated with right-to-left shunts in sickle cell disease // Blood Adv. 2020. Vol. 4. №. 15. PP. 3688–3698.
4. Hocheng H., Tseng C. Mechanical and optical design for assembly of vascular endothelial cells using laser guidance and tweezers // Opt. Commun. 2008. Vol. 281. №. 17. PP. 4435–4441.
5. Wagner M. C., Eckman J. R., Wick T. M. Sickle cell adhesion depends on hemodynamics and endothelial activation // J. Lab. Clin. Med. 2004. Vol. 144. №. 5. PP. 260–267.
6. Brown M. D., Wick T. M., Eckman J. R. Activation of vascular endothelial cell adhesion molecule expression by sickle blood cells // Pediatr. Pathol. Mol. Med. 2001. Vol. 20. №. 1. PP. 47–72.
7. Hess C. N., Kou R., Johnson R. P., Li G. K., Michel T. ADP signaling in vascular endothelial cells: ADP-dependent activation of the endothelial isoform of nitric-oxide synthase requires

the expression but not the kinase activity of AMP-activated protein kinase // *J. Biol. Chem.* 2009. Vol. 284. №. 47. PP. 32209–32224.

8. Lee K., Kinnunen M., Danilina A.V., Ustinov V.D., Shin S., Meglinski I., Priezzhev A.V. Characterization at the individual cell level and in whole blood samples of shear stress preventing red blood cells aggregation // *J. Biomech.* 2016. V. 49, № 7. PP. 1021–1026.

УДК 535.8; 577.352.336; 577.325.3

Приезжев А.В., Виндбергер У.,

Луговцов А.Е., Гурфинкель Ю.И., Никитин С.Ю., Шин С.

ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИХ И БИОМЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

Аннотация: Захват микрочастиц с помощью лазерных пинцетов, рассеяние света, лазерная дифрактометрия и оптическая капилляроскопия открывают новые горизонты для широкого спектра фундаментальных и прикладных исследований в гемореологии, поскольку дают новые возможности для изучения изменения и взаимодействия на уровне отдельных клеток *in vitro* and *in vivo* в норме и при патологиях.

Ключевые слова: лазерный пинцет, агрегометрия, дифрактометрия, оптическая капилляроскопия, гемореология.

A.V. Priezzhev, U. Windberger,

A.E. Lugovtsov, Yu.I. Gurfinkel, S.Yu. Nikitin, S. Shin

OPTICAL TECHNIQUES FOR STUDYING MICRORHEOLOGICAL AND BIOMECHANICAL PROPERTIES OF BLOOD IN NORM AND PATHOLOGY

Annotation. Trapping of microparticles with laser tweezers, light scattering, laser diffractometry and optical capillaroscopy open up new horizons for a wide range of fundamental and applied research in hemogeology, as they provide new opportunities for

studying changes and interactions at the level of individual cells *in vitro* and *in vivo* in norm and in pathology.

Key words: laser tweezers, aggregometry, diffractometry, optical capillaroscopy, hemorheology.

INTRODUCTION

Rapidly developing laser-optical technologies open new horizons for a wide range of fundamental and applied research in hemogeology, as they provide new opportunities for studying changes and interactions at the level of individual cells *in vitro* and *in vivo* in health and in disease. In this paper, we briefly discuss some of them. We present some results that we obtained using these methods in the study of the nature of interaction of blood cells, in particular, during the aggregation of erythrocytes (AE), which is a fundamental reversible process of regulating the hydrodynamic resistance of the vascular network to blood movement. The mechanisms of AE remain not fully understood up to now. Alteration of AE is closely related to the development of many socially significant diseases, such as arterial hypertension, diabetes mellitus, etc.

METHODS

Laser tweezers (LT) is a new technology, the appearance of which in the mid-1980s opened up new possibilities for manipulating microparticles of various natures without mechanical contact, as well as measuring the forces of interaction between them and with the environment. The principle of operation of the LT is in the change of the impulse of forces acting on a dielectric particle during refraction on it of a sharply focused or otherwise formed beam of light with a pronounced spatial intensity gradient. The laser beam acts on a dielectric microparticle located near the beam waist with a force that moves the particle to the equilibrium position and holds it there. In the immediate vicinity of the focus of the beam, the LT behave like a linear spring, generating forces acting on the trapped particle proportional to its displacement from the center of the laser beam waist. If the position of this waist changes, then the position of the particle also changes. The displacement of a particle from its equilibrium position by external forces can be calibrated so that these forces can be accurately measured in the range of 0.1 - 100 pN. Another method used in this work is laser aggregometry (LA) of

erythrocytes. This method measures the ability of cells to aggregate and disaggregate in the flow in whole blood samples. The essence of the LA method consists in measuring the kinetics of the change with time of the output signal of the photodetector, proportional to the intensity of light diffusely scattered by the whole blood layer in the process of spontaneous aggregation of erythrocytes (AE) and shear disaggregation of erythrocytes (DE). Analyzing the measured signal kinetics, it is possible to obtain several important parameters characterizing the microrheological properties of blood: AE intensity, characteristic time of AE, hydrodynamic strength of aggregates, etc.

The method of laser diffractometry (LD), which we continue to develop consists in the analysis of a diffraction pattern obtained from a blood smear or from a cell suspension with a low level of hematocrit in a shear flow. With the help of LD, it is possible to calculate the parameters characterizing the distribution of erythrocytes by size and by their ability to deform under the action of shear stresses in the flow. The technique of digital capillaroscopy (DC) of nailfold capillaries with high resolution, which we develop allows us to perform *in vivo* imaging of the blood capillaries and the perivascular zone (PZ) around them, to quantify the degree of the tissue edema in patients suffering from heart failure (HF). The use of vital DC also makes it possible to detect the remodeling of the microvascular bed in patients with arterial hypertension. The tortuosity of the capillary bed, which is one of the characteristic signs of diabetes mellitus, reflects the pathophysiological mechanism caused by a decrease in the permeability of the capillary wall due to the deposition of glycoproteins in it.

RESULTS

Using LT we measured the forces of interaction of cells during aggregation and disaggregation, depending on the composition of the medium, temperature, area and duration of initial contact, characteristic of the blood of healthy donors and patients suffering from a number of diseases. In particular, we carried out a detailed study of the effect of blood plasma proteins on AE and showed that they play a significant role: in plasma, the role of albumin in AE depends on fibrinogen and changes from an agonist in the normal range of fibrinogen concentrations (2-6 mg/ml) to an inhibitor at a

high concentration of fibrinogen (8 mg/ml). In a pure solution of fibrinogen, the addition of albumin leads to a significant increase in the interaction of cells, but spontaneous AE is practically absent. We have combined LP with a microfluidics system and fluorescence microscopy. This allowed us to find that fibrinogen and dextran are adsorbed on the membrane of an erythrocyte. This is an important finding, since there have been no conclusive results regarding adsorption to date, they were thought to be susceptible to numerous potential artifacts (e.g., the effect of entrained fluid between cells). On the contrary, our result is a direct evidence for adsorption. The presentation is accompanied by video recording of the processes of cell interaction during their aggregation / disaggregation in real time.

Using LA we have shown that all erythrocyte aggregation parameters statistically differ ($p < 0.05$) for patients suffering from arterial hypertension (AH) and the control group. It follows from these results that the erythrocytes of people suffering from AH aggregate faster in comparison with the control group. Developing the method of LD we have designed an algorithm for measuring the four central parameters of the erythrocyte deformability distribution, i.e. mean value, variance, asymmetry coefficient and kurtosis. The algorithm is designed to work with the peripheral part of the diffraction pattern and serves to analyze weakly inhomogeneous ensembles of erythrocytes. Using DC we have shown that the PZ size is governed by the accumulation of interstitial fluid in the epidermis. The results of *in vivo* nail fold multiphoton tomography combined with fluorescence lifetime imaging support this hypothesis. Hence, we suggest a novel quantitative and very sensitive non-invasive indicator of HF and its severity. Our studies have shown a possibility of determining the presence of aggregates in the capillary bed. This allows for monitoring the effectiveness of treatment of coronary heart disease with platelet antiaggregation drugs and new oral anticoagulants.

CONCLUSION

Our brief review of several laser-optic technologies that are still being developed and adapted for hemorheologic applications and of some results of their implementation into fundamental and applied hemorheologic research shows that they have a great potential to improve our understanding of complex hemorheologic phenomena.

Concerning the clinical implementation of our results, we find that the measured parameters of both aggregation of erythrocytes and disaggregation of erythrocytes are sensitive to the alternations due to arterial hypertension and/or diabetes mellitus. Monitoring these parameters is essential for adequate estimation of the patients' state, the ways to improve the treatment procedure and to correct the patients' hemorheology.

The work was supported by Russian Foundation for Basic Research (grant No. 19-52-51015).

REFERENCES

1. Lugovtsov A.E., Gurfinkel Y.I., Ermolinskiy P.B. et al. Optical assessment of alterations of microrheologic and microcirculation parameters in cardiovascular diseases // Biomed. Opt. Express 2019. V. 10. № 8. PP. 3974-3986.
2. Lee Kisung, Shirshin E., Rovnyagina N., Yaya F., Boujja Z., Priezzhev A., and Wagner C. Dextran adsorption onto red blood cells revisited: single cell quantification by laser tweezers combined with microfluidics // Biomed. Opt. Express 2018. V. 9. № 6. PP. 2755-2764.
3. Ermolinskiy P.B., Lugovtsov A.E., Maslyanitsina A.I., Semenov A.N., Dyachuk L.I., and Priezzhev A.V. Interaction of erythrocytes in the process of pair aggregation in blood samples from patients with arterial hypertension and healthy donors: measurements with laser tweezers // J. Biomed. Photonics & Eng. 2018. V. 4. № 3. P. 030303.
4. Nikitin S.Yu. and Ustinov V.D. Characteristic point algorithm in laser ektacytometry of red blood cells // Quantum Electronics 2018. V. 48. № 1. PP. 70 – 74.
5. Lee Kisung, Wagner C., and Priezzhev A.V. Assessment of the “cross-bridge”-induced interaction of red blood cells by optical trapping combined with microfluidics // J. Biomed. Opt. 2017. V. 22. №9. P. 091516.
6. Priezzhev A. and Lee Kisung. Potentialities of laser trapping and manipulation of blood cells in hemorheologic research // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2016, V. 64, PP. 587–592.

**АНАЛИЗ СПЕЦИФИЧЕСКИХ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ
КОМПОНЕНТОВ КИСЛОРОДНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ
ТРЕНИРОВАННОГО И ДЕТЕНИРОВАННОГО
ОРГАНИЗМА**

Аннотация. Анализировали специфические и неспецифические компоненты кислородного обеспечения тренированного и детренированного организма у высокотренированных спортсменов. Показано, что лица, проявляющие высокую аэробную производительность, обладают оптимальными параметрами функции внешнего дыхания, эффективным гематологическим профилем, экономичной работой ССС в покое, рациональной реакцией на стандартную физическую нагрузку и лучшим по степени функционального состояния сосудистым руслом нижних конечностей. У лиц, прекративших систематические занятия спортом, было найдено ухудшение параметров кислородтранспортной системы организма. В группах 1 и 2 в сравнении с контролем чаще встречались варианты генов в «сильных» позициях, отвечающих за сосудистый тонус, состояние эндотелия и стойкость тканей к гипоксии.

Ключевые слова: генотип, система крови, гемореология, сосудистый тонус, кислородное обеспечения организма

Yu.L. Maslennikova

**ANALYSIS OF SPECIFIC AND NONSPECIFIC COMPONENTS OF
OXYGEN SUPPLY IN A TRAINED AND DETAINED ORGANISM**

Annotation. We analyzed the specific and nonspecific components of the oxygen supply of the trained and detrained organism in highly trained athletes. It was shown that individuals with high aerobic performance have optimal values characterizing the functions of external respiration, an effective hematological profile, economical work of CVS at rest, a rational response to standard physical activity and the best in terms of the degree of functional state of the vascular

bed of the lower extremities. Deterioration in the parameters of the body's oxygen transport system was found in persons who stopped systematic sports activities. In groups 1 and 2, in comparison with the control, gene variants in "strong" positions, responsible for vascular tone, endothelial state, and tissue resistance to hypoxia, were more common.

Key words: genotype, blood system, hemorheology, vascular tone, oxygen supply of the body.

Введение

Функциональная система крови находится под контролем генетического аппарата и представляет собой иерархию подсистем регуляции. [1,2]. Степень её активности зависит от скорости кровотока, реологических свойств самой крови, состояния сосудистой стенки, тканевого дыхания и генетического профиля [2,3]. Известно, что уровень функциональной активности системы крови и реологической гемоциркуляции может резко меняться при отклонениях физиологических функций от оптимального для метаболизма уровня, например, при спортивной тренировке и её прекращении, реагируя на воздействие факторов среды набором специфических и неспецифических компонентов [1, 2, 3, 4].

Представляется интересным рассмотреть закономерности отклонений специфических и неспецифических гомеостатических констант в ответ на длительные высокие аэробные нагрузки (спортсменки высокого уровня подготовки) и при их прекращении (детренированность).

Методика

Обследованы высокотренированные женщины (КМС, МС, МСМК) в видах спорта аэробной направленности (лыжные гонки, кросс, марафонский бег, горный бег) в возрасте от 18 до 29 лет (n=42). Они были распределены в три группы: Контрольная – здоровые нетренированные девушки, 1 – спортсменки, регулярно получающие нагрузку высокой интенсивности аэробной направленности, 2 – испытуемые, прекратившие регулярные тренировочные занятия более двух лет назад и не получающий регулярные физические нагрузки. У всех обследованных лиц определяли: - величину МПК и МПК/МТ с помощью субмакси-

мального нагрузочного теста (PWC_{170}) [4]; - базовые параметры функции внешнего дыхания методом пикфлоуметрии («Эрих Егер», Германия); - содержание форменных элементов крови в венозной крови при помощи гематологического анализатора на 9 параметров DANAM HC – 5710 Dallas, Texas; - состояние регионального кровообращения методом доплеровской ультразвуковой диагностики, «DOPLEX-2500» подробно описанной в других работах [5]. Рассчитаны М (см/сек), Тц (сек), S/D, P/I, RI, IA, PWI; - полиморфные варианты генов *BDKRB 2* (BDKRB receptor B2: 9 bp -9/+9 bp exon 1), *ACE* (rs4340: 287 bp Ins/Del ангиотензин-превращающий фермент), *AGTR 1* (rs5186 angiotensin II receptor, vascular type 1 1166 A>C), *EPAS 1* (ген эндотелиального PAS-домена, белок 1 (*HIF2A*) A/G интрон1), *VEGFA* (Vascular endothelial growth factor A; -634G/C), *PPARG* (34 C>G (Pro12Ala) ген ядерного гамма-рецептора, активируемого пролифераторами пероксисом) из образцов венозной крови испытуемых (амплификатор ДТ-96 (ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Россия; капиллярный секвенатор ABI PRISM 310, США). Проводили статистическую обработку данных.

Результаты и их обсуждение

У тренированных лиц в группе 1 активация работы мышечной системы при спортивной тренировке привела к увеличению общей аэробной производительности, экономизации работы сердечно-сосудистой системы в покое и функционального ответа на стандартную физическую нагрузку на что указывает достоверное различие ($p < 0,05$) с контролем в величине индекса Робинсона при нагрузке (на $9,00 \pm 1,49$, 23%, $p < 0,05$), абсолютных и относительные величины МПК и PWC_{170} (19% и 17% соответственно), времени восстановления (на 32%, $p < 0,05$). Параметры физической работоспособности женщин группы 2 значительно не отличались от контроля (рис. 1).

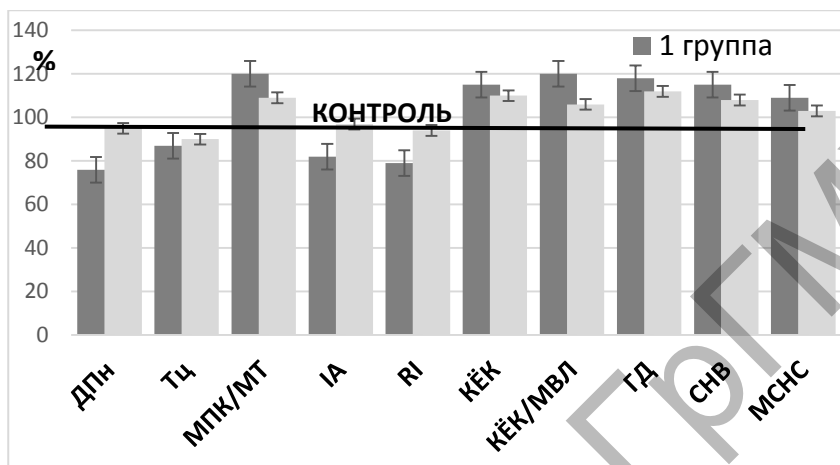


Рис. 1. Параметры, достигшие достоверных различий с контролем (ДПн – индекс Робинсона при нагрузке, Тц – длительность сердечного цикла (сек), МПК/МТ – аэробный потенциал, RІ – индекс Персело, IА – индекс ускорения, КЁК – кислородная ёмкость крови, МВЛ – максимальная вентиляция лёгких, СНВ – количество гемоглобина, МСНМ – средняя концентрация гемоглобина в эритроците).

Различие в параметрах внешнего дыхания оказались достоверными лишь в отношении частоты (на 43% и 25% соответственно), глубины дыхания (на 19% и 14% соответственно) и потоковой скорости. Анализ картины гематологических показателей лиц группы 1, обнаружил высокую эффективность эритроцитарного компонента крови. Так достоверно больше были показатели общего числа эритроцитов, количества гемоглобина, среднего содержания и концентрации гемоглобина в эритроците. Кислородная ёмкость крови была достоверно выше в сравнении с контролем в группах 1 и 2 на 15% и 10 %, соответственно ($p < 0,05$), КЁК/МВЛ на 20% и 6% соответственно ($p < 0,05$).

Отметим, что в целом анализ параметров при исключении фактора высокой мышечной нагрузки свидетельствует о том, что имеет место снижение специфического компонента жизнеобеспечения у детренированных лиц, что выражается в потере ранее приобретённых адаптационных приспособлений в работе сердечно-сосудистой системы, в обеспечении функции внешнего дыхания и системы крови.

Исследование вариантов кровотока выявило, что высокие величины МПК/МТ в наибольшей степени коррелировали с величиной индекса Госслинга (PI, $r = -0,54$), индексом подъёма пульсовой волны (PWI, $r = -0,56$) и длительностью сердечного цикла (Тц, $r = 0,64$). Кроме того, в группах спортсменок выявлена достоверно большая частота I аллеля ACE гена (0,62), ассоциированного с большей активностью брадикинина и высокая встречаемость -9/-9 генотипа BDKRB 2 ассоциированного с высоким уровнем экспрессии мРНК рецептора, увеличивающего активность брадикинина.

Анализ генетического профиля женщин в группах 1 и 2 выявил большую в сравнении с контролем частоту встречаемости в «сильных» позициях вариантов генов, отвечающих за сосудистый тонус: отрицательного аллельного (-9) и гомозиготного (-9/-9) признака гена *BDKRB 2* - генотип «высокой активности брадикинина», чаще на 6 % и 4% ($p < 0,05$) гомозиготного вариант II гена *ACE*- регулятора вазопрессорной функции, на 8,5% и 8,2% ($p < 0,05$). Чаще в этих группах встречается комбинация CC гена *EPAS 1*, ассоциированного с высокой стойкостью тканей к гипоксии и регуляцией эритроцитарной функции крови, и на 8% - вариант CC гена эндотелиального фактора роста *VEGFA*, ассоциированного с генетическим детерминированием регуляции ангиогенеза, васкулогенеза, пролиферации клеток эндотелия и синтеза триглицеридов. Несмотря на то, что частоты генотипов значимо не отличаются в группах 1 и 2, и вместе с тем они, несколько ниже в группе женщин, рано прекративших спортивную карьеру (группа 2).

Заключение

Анализ специфических и неспецифических компонентов кислородного обеспечения показал, что в группе активных лиц (группа 1), в сравнении с контролем, достоверно выше оказались показатели функционального состояния сердечно-сосудистой (МПК/МТ, ДП) и дыхательной систем (ЧД, ГД, ПОС), клеточный состав крови (СНВ, МСНМ, КЭК/МВЛ), состояние регионального кровообращения по данным УЗДГ (RI, IA, PWI, Тц), и ассоциировано с «сильным» генетическим профилем. Такие условия обеспечивают эффективную систему транспорта кислорода и лучшие условия для проявления общей аэробной работоспособности. Состояние детренированности,

несмотря на высокий генетический статус, характеризуется менее эффективным обеспечением тканей кислородом.

Библиографический список

1. Фомин, Н.А., Особенности активности ферментов сывортки крови у спортсменов и нетренированных лиц / Н.А Фомин, Н.М Горохов, Л.В. Тимошенко // Теория и практика физической культуры. - 2006.- № 1.-С. 9-11,39-41
2. Муравьев, А. В., Микроциркуляция и гемореология: точки взаимодействия // Региональное кровообращение и гемореология / А.В. Муравьев, П.В. Михайлов, И. А. Тихомирова. – Т. 16, №2 (62), 2017. – С.91-100.
3. Солодков, А. С. Адаптация в спорте: состояние, проблемы, перспективы [Текст] / А. С. Солодков // Физиология человека. – 2000. – Т. 26. – № 6. – С.87 – 93.
4. Масленникова, Ю.Л. Сравнительный анализ функционального состояния организма тренированных и детренированных лиц [Текст] / Ю. Л. Масленникова, И. А. Осетров, П. В. Михайлов // Ярославский педагогический вестник. Естественные науки – Yaroslavl pedagogical bulletin:научный журнал. – Ярославль:Изд-во ЯГПУ, – 2012 – № 4 – Том III (Естественные науки). -С. 181-185.

УДК 546.221.1:612.822:616

Булаева С.В., Волкова Е.Л., Михайлов П.В.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ВЛИЯНИЯ ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ НА МИКРОРЕОЛОГИЮ ЭРИТРОЦИТОВ И ТРОМБОЦИТОВ

Аннотация. Целью работы было исследование влияния доноров сероводорода и оксида азота на агрегацию и деформируемость эритроцитов и агрегируемость тромбоцитов *in vitro*. Было сформировано три группы лиц по уровню максимального потребления кислорода: с умеренным, высоким и низким аэробным потен-

циалом. Образцы крови стабилизировали цитратом натрия. Тромбоциты из обогащенной им плазмы, а также эритроциты, инкубировали с донорами NO и H₂S – нитропропруссидом натрия (НПН) и гидросульфидом натрия (NaHS) в концентрации 100 мкМ. Было выявлено снижение агрегации и увеличение деформируемости эритроцитов под влиянием обоих препаратов, наиболее выраженным эффект был в группе лиц с высоким уровнем аэробной работоспособности. НПН вызывал снижение АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов во всех группах наблюдений. Однако наиболее заметно у лиц с высоким уровнем аэробной работоспособности. NaHS также снижал агрегацию тромбоцитов во всех группах, но заметнее у лиц с низким аэробным потенциалом.

Ключевые слова: максимальное потребление кислорода, газотрансммиттеры, оксид азота, сероводород, агрегация, деформируемость, эритроциты, тромбоциты.

Bulaeva S.V., Volkova E.L., Mikhailov P.V.

THE MECHANISMS OF THE INFLUENCE OF GASOTRANSMITTERS ON PLATELETS AND RED BLOOD CELLS MICRORHEOLOGY

Annotation. The aim was to study the effect of hydrogen sulfide and nitric oxide donors on the aggregation and deformability of red blood cells and platelet aggregation. Three groups of individuals were formed according to the level of maximum oxygen consumption: with moderate, high and low aerobic potential. Blood samples were stabilized with sodium citrate, platelet-poor and platelet-rich plasma was prepared, red blood cells were washed, and then cells were incubated with sodium nitroprusside and sodium hydrosulfide (100 μM). There was a decrease in RBC aggregation and an increase in their deformability. The most marked effect was in the group of people with a high level of aerobic performance. The nitric oxide donor caused a decrease in ADP-induced platelet aggregation in all groups, most notable in group of individuals with a high level of aerobic performance, the hydrogen sulfide donor also reduced platelet aggregation in all groups, but more noticeably in individuals with low aerobic potential.

Key words: oxygen transport, gasotransmitters, nitrogen oxide, hydrogen sulfide, erythrocytes, platelets, deformability, aggregation

Введение

Имеются убедительные данные о вазодилатирующем эффекте газотрансмиттеров (ГТ): монооксида углерода (CO), оксида азота (NO), и сероводорода (H₂S) [Cebová 2016; Chlopicki 2006; Mahaut-Smith 1995]. Имеются данные о том, что газотрансмиттеры могут модулировать функцию тромбоцитов [Truss, 2011, Richardson 2020]. Кроме того известно, что механическая стимуляция клеточной мембраны эритроцитов активирует NO-синтазу, приводя к генерации NO, которая имеет несколько внутриклеточных эффектов, включая S-нитрозилирование интегральных компонентов мембраны [Kuck, 2020]. Последнее может способствовать восстановлению нитритов до NO, увеличивать S-нитрозилирование α - и β -спектринов эритроцитов и повышать деформируемость эритроцитов (Grau, 2016). С учетом всего вышесказанного *целью* нашего исследования была оценка влияния ГТ на агрегацию и деформируемость эритроцитов, агрегацию тромбоцитов в группах лиц с разным уровнем аэробной работоспособности.

Материал и методы

В исследование было вовлечено 40 человек. Разделение на группы наблюдений было выполнено на основе определения максимального потребления кислорода (МПК/ кг массы тела) при нагрузочном тестировании на велоэргометре по методу В.Л. Карпмана и др., 1988). Было сформировано 3 группы: группа с умеренным аэробным потенциалом МПК от 40 до 50 мл/кг/мин (n=16); группа с относительно высокой его величиной, МПК>51 (n=16); и группа с относительно низким обеспечением организма кислородом (МПК менее 40 млО₂/кг/мин; n=8). Образцы крови получали венопункцией, в качестве антикоагулянта использовали цитрат натрия 3,2%. Богатую тромбоцитами плазму получали центрифугированием в течение 7 мин при 1000 об/мин. После ее отделения оставшуюся кровь центрифугировали в течение 20 мин при 3000 об/мин. После этого отбирали бестромбоцитарную плазму, удаляли лейкоцитарно-тромбоцитарную пленку и выделяли эритроцитар-

ную массу. Последнюю трижды отмывали, а затем ресуспендировали с либо препаратом в выбранной концентрации (100 μM) или без него, что было контрольной пробой. Агрегацию эритроцитов регистрировали с помощью агрегометра Мутепе М1 (Германия), который дает возможность получить четыре индекса агрегации, при низких (3 c^{-1}) и высоких скоростях сдвига (600 c^{-1}). Кроме того, процесс агрегации контролировали методом прямой микроскопии. Для оценки мембранной вязкоэластичности эритроцитов и их деформируемости в целом определяли индекс удлинения эритроцитов (ИУЭ) в проточной микрокамере. АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов измеряли на лазерном анализаторе агрегации Биола. Суспензии клеток делили на несколько аликвот и их инкубировали при 37°С в течение 30 мин с каждым из перечисленных соединений: с донором NO – нитропропруссидом натрия (НППН, в концентрации 100 μM); с донором H₂S – гидросульфидом натрия (NaHS, в концентрации 100 μM).

Результаты

Показатели агрегации эритроцитов были сопоставимы в группе с высоким аэробным потенциалом и с умеренным аэробным потенциалом, у лиц с низким аэробным потенциалом выше на 25% ($p < 0.05$). После инкубации с газотрансммитерами снижалась агрегация эритроцитов. У лиц с высоким аэробным потенциалом эффект был наиболее выраженным и составил 25-35%, у лиц с низким аэробным потенциалом – не менее 15-10%. Заметнее во всех группах снижение вызывал донор NO, нежели сероводород.

Деформируемость эритроцитов (ДЭ) у лиц с высоким аэробным потенциалом составила 0,227 отн.ед., что было выше, чем у лиц с умеренным МПК, на 8% ($p < 0.05$). Оба донора ГТ повышали ДЭ. При этом эффект был несколько большим в группе лиц с относительно высоким МПК. Донор NO снижал агрегацию тромбоцитов (АТ). Было установлено, что у лиц с высоким МПК, это снижение составило 62% ($p < 0.05$). В то время как лиц с умеренным аэробным потенциалом, и низкой его величиной, изменения этого показателя были существенно меньшими. Что касается другого ГТ, то донор сероводорода – гидросульфид натрия снизил АТ во всех группах наблюдений на 15-

30% ($p < 0.05$). Однако заметно меньше в лиц с относительно высоким обеспечением организма кислородом.

Выводы

1. Под влиянием доноров NO и H₂S происходило снижение агрегации эритроцитов на 25-40%. При этом важно заметить, что у лиц с относительно высоким уровнем аэробной работоспособности этот эффект газотрансмиттеров был более выраженным.

2. Донор оксида азота снижает АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов, наиболее заметно в группе лиц с высоким аэробным потенциалом. Донор сероводорода, NaHS проявил сходный с NO эффект, однако он больше повлиял на агрегацию тромбоцитов у лиц со средним и умеренным обеспечением организма кислородом.

3. Данные, полученные на двух группах клеток крови: эритроцитах и тромбоцитах свидетельствуют о том, что доноры газотрансмиттеров статистически достоверно снижают их агрегацию

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и БРФФИ в рамках научного проекта № 20-515-00019

Библиографический список

1. Cebová M., Košútová M., Pecháňová O. Cardiovascular effects of gasotransmitter donors. *Physiol Res.* 2016. V.65. Suppl 3: 291-307.

2. Chlopicki S., Olszanecki R., Marcinkiewicz E., Lomnicka M., Motterlini R. Carbon monoxide released by CORM-3 inhibits human platelets by a mechanism independent of soluble guanylate cyclase. *Cardiovascular Research.* 2006. V.71, I. 2. 393–401.

3. Grau M., Lauten A., Hoepfener S., Goebel B., Brenig J., Jung C., Bloch W., Suhr F. Regulation of red blood cell deformability is independent of red blood cell-nitric oxide synthase under hypoxia. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2016. 63(3). 199-215.

4. Kuck L., Peart J. N., Simmonds M. J. Active modulation of human erythrocyte mechanics. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2020; 319(2); 250-257.

5. Mahaut-Smith MP. Calcium-activated potassium channels in human platelets. *J Physiol.* 1995; 484(Pt 1):15-24.

6. Richardson K.J., Kuck L., Simmonds M.J. Beyond oxygen transport: active role of erythrocytes in the regulation of blood flow. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2020; 319(4): H866-H872.

7. Truss N. J., Warner T. D. Gasotransmitters and platelets. *Pharmacology & Therapeutics.* 2011; 132:196-203.

8. Zhongjian Cheng and Raj Kishore. Potential role of hydrogen sulfide in diabetes-impaired angiogenesis and ischemic tissue repair. *Redox Biol.* 2020; 37:10170-10174.

**СТАТЬИ ОБУЧАЮЩИХСЯ
ПО МАГИСТЕРСКОЙ ПРОГРАММЕ**

А.Д. Сорогин

**ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЖЕЛ
И ВЕРТИКАЛЬНОГО ПРЫЖКА В ГОДИЧНОМ ЦИКЛЕ
ПОДГОТОВКИ У ФУТБОЛИСТОВ 13-14 ЛЕТ**

Аннотация. В данной статье приведены и проанализированы данные показателей физического развития и показателей функциональной подготовленности футболистов 13-14 лет в период годичного цикла подготовки. На основе ежемесячной регистрации показателей ЖЕЛ методом спирометрии, а так же показателей вертикального прыжка построены графики зависимости с использованием математической модели. Были сделаны выводы об изменениях в физическом развитии спортсменов и изменения показателей функциональной подготовленности футболистов в годичном цикле тренировочного процесса.

Ключевые слова: физическое развитие, функциональная подготовленность, математическая модель, годичный цикл подготовки.

A. D. Sorogin

**ASSESSMENT OF CHANGES IN THE INDICATORS OF THE VEL
AND VERTICAL JUMP IN THE ANNUAL TRAINING CYCLE OF
13-14-YEAR-OLD FOOTBALL PLAYERS**

Annotation. This article presents and analyzes the data of indicators of physical development and indicators of functional fitness of football players aged 13-14 years during the annual training cycle. Based on the monthly registration of the indicators of the VEL by spirometry, as well as the indicators of the vertical jump, graphs of the dependence are constructed using a mathematical model. Conclusions were drawn about changes in the indicators of physical development of athletes and changes in the indicators of functional fitness of football players in the annual training cycle.

Keywords: physical development, functional fitness, mathematical model, one-year training cycle.

Введение

В детском и юношеском спорте особое внимание следует уделить контролю за физическим развитием и функциональной подготовкой спортсменов, ведь современный футбол с возросшими тренировочными и соревновательными нагрузками требует от юных спортсменов высокого уровня подготовленности, а большие тренировочные нагрузки предъявляют к окончательно еще не сформировавшемуся организму ребят повышенные требования. [7]

В процессе спортивной тренировки происходят разнообразные функциональные и морфологические изменения в организме спортсмена, определяющие состояние его тренированности. [4] Проводя динамические наблюдения и контролируя показатели основных сторон подготовленности, физического развития юных футболистов можно осуществлять наблюдение и контроль, так же прогнозировать уровень профессионального развития спортсмена. [7]. Определение уровня развития физической подготовленности футболиста может играть важную роль в построении цикла подготовки, выбора тех или иных методик в тренировочной работе, а так же в отборе игроков для комплектования команд. С учётом всего вышеописанного целью данного исследования было изучение изменений показателей ЖЕЛ и вертикального прыжка у юных футболистов, а так же оценка и анализ этих изменений в период годичного цикла подготовки.

Материал и методы исследования

Под наблюдением находилась группа юных футболистов школьного возраста (подростки-мальчики, возраст - 13-14 лет, n=20). Кроме занятий в школе все они проходили обучение и тренировку по футболу в ДЮСШ СК «Шинник» с периодичностью 4-5 раз в неделю. При ежемесячном комплексном тестировании в течение года занятий спортивными играми у всех подростков регистрировали массу тела, рост и жизненную емкость легких (ЖЕЛ, аппарат «Спиротест», Россия), как показатели их физического развития [Аулик] и его изменения по месяцам наблюдений.

В комплексе регистрируемых параметров было и определение двигательной подготовленности по измерению величины вертикального прыжка (прибор Абалакова), как показателя

взрывной силы ног, важной характеристики подготовленности юных футболистов. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием цифрового редактора Microsoft Excel. При этом определяли средние величины и получали регрессионные модели [В.М. Зациорский], путем графических построений в формате «точечных» диаграмм. Последнее позволяло делать прогноз на развитие изучаемых характеристик в ближайшем будущем процесса тренировки.

Результаты

Анализ данных, приведённых в таблице, позволил предположить, что показатель физического развития (ЖЕЛ) и двигательной подготовленности изменялись по-разному в годичном цикле обучения и тренировки спортивным играм.

Таблица

Изменение ЖЕЛ и высоты вертикального прыжка у подростков школьного возраста (13-14 лет) в течение годичного цикла обучения и тренировки по футболу (n=20)

Период наблюдения (месяцы)	ЖЕЛ, л	Прыжок, см
Январь	2,93	31,6
Февраль	2,86	30,9
Март	2,91	31,5
Апрель	2,98	32,1
Май	3,09	33,5
Июнь	3,30	33,9
Июль	3,18	34,5
Август	3,20	34,1
Сентябрь	3,35	36,3
Октябрь	3,36	35,1
Ноябрь	3,30	38,2
Декабрь	3,39	42,6

Изменение ЖЕЛ в течение года можно описать регрессионным соотношением, вида $y = ax + b$. Конкретное уравнение этого типа можно получить при обработке данных в Excel путем построения точечной диаграммы (рис. 1).

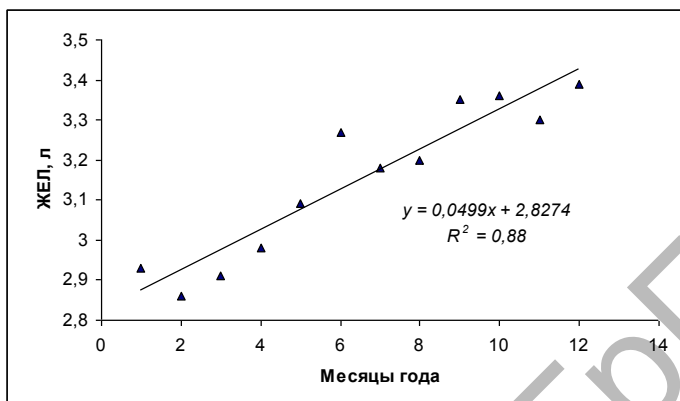


Рис. 1. Регрессионное соотношение изменения жизненной емкости легких (ЖЕЛ) в течение годового цикла обучения и тренировки, у подростков 13-14 лет, занимающихся футболом.

Было получено уравнение $y = 0,05x + 2,83$ с коэффициентом достоверности презентации данных, равным 0,88. Это свидетельствует о том, что на 88% можно прогнозировать прирост ЖЕЛ с возрастом, используя это уравнение. Вторая изучаемая характеристики – высота вертикального прыжка, как показатель взрывной силы мышц ног, тоже возрастала в течение года обучения и тренировки (рис. 2).

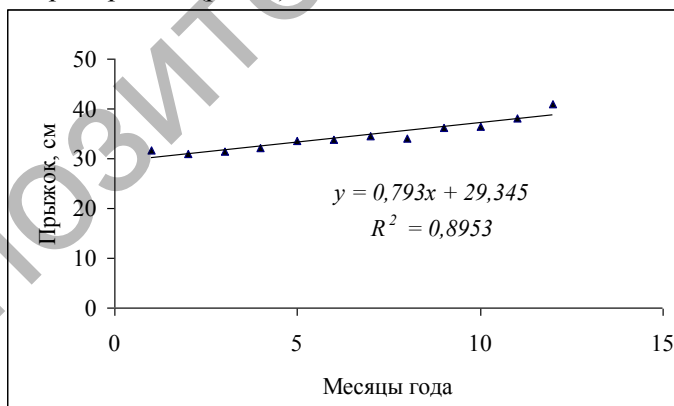


Рис. 2. Регрессионное уравнение, описывающее изменение высоты прыжка у подростков 13-14 лет в течение года тренировки спортивными играми (футбол).

Было получено уравнение $y = 0,793x + 29,345$ с коэффициентом достоверности презентации данных, равным 0,89. Это свидетельствует о том, что на 89% можно прогнозировать прирост высоты прыжка с возрастом, используя это уравнение. Из представленных данных видно, что оба показателя увеличиваются с течением времени. Показатели ЖЕЛ за год активных тренировок повысились с 2927 до 3391 мл. Показатели высоты вертикального прыжка за год активных тренировок повысились с 31,6 до 42,6 см.

Заключение

Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют о положительной динамике в изменении показателей ЖЕЛ и высоты вертикального прыжка во время годичного цикла подготовки юных футболистов 13-14 лет. Выбранные характеристики для тестирования отражают как общие показатели работоспособности и физического состояния организма (МПК), так и специальные (высота вертикального прыжка), характерные для конкретного вида спорта. Несмотря на необходимость учитывать факторы аэробной, анаэробной и метаболической производительности, определение только аэробной производительности (МПК) дает вполне достаточные и обоснованные данные о физическом состоянии спортсмена [5]

Другая характеристика – высота вертикального прыжка, отражает показатели взрывной силы ног – важного критерия в оценке подготовленности футболистов разных возрастов. Благодаря регрессионным математическим моделям, полученным в ходе обработки результатов тестирования, можно спрогнозировать изменение показателей исследуемых характеристик и получить прогноз развития функциональных возможностей спортсменов [2]

Библиографический список

1. Аулик, И. В. Определение физической работоспособности в клинике спорта / И. В. Аулик. – М. : Медицина, 1990. – 192 с.
2. Афанасьев, В. В. Спортивная метрология / В. В. Афанасьев, А. В. Муравьев, И. А. Осетров, П. В. Михайлов. – Ярославль : Изд-во ЯГПУ, 2009. – 242 с.

3. Волков Л.В. Физические способности детей и подростков. – Киев: Здоров'я, 1981. – 120 с.
4. Губа, В.П., Скрипко А., Стула А. Тестирование и контроль подготовленности футболистов / Губа, В.П., Скрипко А., Стула А. – М.: Изд-во: Спорт. 2016. – 168 с.
- Зациорский, В.М. Спортивная метрология / В. М. Зациорский. – М.: ФиС, 1982. – 256с.
5. Озолин Н.Г. Настольная книга тренера. – М.: АСТ Астрель. 2006. – 863 с.
6. Скоморохов Е.В., Ковалев В.В. Особенности индивидуального развития юных футболистов //Футбол. 1984, с. 23-26.

УДК 614.2; 378.172

В.А. Черногубова, А.В. Муравьев, К.И. Румянцев

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФИЗИЧЕСКОГО И ФУНКЦИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ У ПОДРОСТКОВ 11 И 15 ЛЕТНЕГО ВОЗРАСТА

Аннотация. В статье приведены и проанализированы данные физического развития, двигательной и функциональной подготовленности подростков (мальчиков) 11 и 15 летнего возраста. Определены величины аэробной работоспособности на основе ее регистрации в тесте PWC₁₇₀ (в модифицированном варианте с учетом возраста) и расчета величины максимального потребления кислорода (МПК). Для характеристики уровня физического здоровья и его связей с физической подготовленностью и физическим развитием был проведен корреляционный анализ. Были выявлены корреляции МПК, как показателем физического здоровья с рядом показателей физической подготовленности и развития, особенно в группе 15-летних подростков.

Ключевые слова: Физическое развитие и подготовленность, подростки, аэробная работоспособность, корреляции

COMPARATIVE ANALYSIS OF PHYSICAL AND FUNCTIONAL DEVELOPMENT IN ADOLESCENTS AGED 11 AND 15

Annotation. The article presents and analyzes the data of physical development, motor and functional fitness of adolescents (boys) of 11 and 15 years of age. The values of aerobic performance were determined based on its registration in the PWC170 test (in a modified version, taking into account age) and the calculation of the maximum oxygen consumption (MPC). To characterize the level of physical health and its relationship with physical fitness and physical development, a correlation analysis was conducted. Correlations of BMD as an indicator of physical health with a number of indicators of physical fitness and development were revealed, especially in the group of 15-year-olds.

Keywords: Physical development and fitness, adolescents, aerobic performance, correlations

Введение

Известно, что физическое здоровье человека связано с его энергетическим потенциалом, который косвенно можно определить по уровню МПК [1, 4]. Имеется существенный вклад нормально протекающего развития движений в формирование оптимального уровня физического здоровья детей и подростков [5, 6, 7]. Поэтому определение уровня двигательной подготовленности, физического развития и состояния основных кислородтранспортных функций может внести определенный вклад в понимании физического здоровья человека вообще и растущего организма в частности. С учетом вышесказанного целью данного исследования было изучение уровня физического здоровья, аэробного потенциала и их связей с физической подготовленностью и физическим развитием.

Материал и методы исследования

Под наблюдением было две группы подростков. Первую группы (группа 1, n=26) составили подростки-мальчики 11 лет, занимающиеся спортивными играми (3 раза в неделю). Вторая группа – подростки 15-летнего возраста (группа 2, n=24). У всех

регистрировали рост, вес, общепринятыми методами. Измеряли величины систолического (САД) и диастолического АД (ДАД), а также ЧСС с помощью Microlife BP. Жизненную емкость легких (ЖЕЛ) определяли с помощью спиротеста портативного УСПЦ-01. Рассчитывали жизненный индекс (ЖИ= ЖЕЛ/массы тела). С помощью кистевого динамометра определяли силы правой и левой руки. Аэробную работоспособность регистрировали на основе теста PWC170 с коррекцией на возраст [4], с последующим расчетом величины МПК и МПК/кг массы тела. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием цифрового редактора Microsoft Excel. Гипотеза о взаимосвязи данных проверялась по коэффициентам ранговой корреляции Спирмена [2]. Данные в таблицах и тексте представлены как $M \pm \sigma$.

Результаты

Как видно из данных, приведенных в табл. 1. физического развития (рост, масса тела) соответствуют норме детей указанного возраста. Это касалось и уровня двигательной подготовленности. Величины кистевой динамометрии и вертикального прыжка были достаточной величины и достоверно различались между сравниваемыми группами.

Таблица 1

Показатели физического развития и функциональные характеристики организма подростков 11 и 15 лет ($M \pm \sigma$)

Показатели	Группа 1 (11 лет)	Группа 2 (15 лет)	Различия (в %)
Масса, кг	36,1 $\pm$ 4,49	61,3 $\pm$ 3,8	70
Рост, см	146,3 $\pm$ 6,0	173,7 $\pm$ 8,6	19
САД, мм рт. ст.	98,8 $\pm$ 8,5	122,4 $\pm$ 6,6	24
ДАД, мм рт. ст.	56,6 $\pm$ 7,3	66,6 $\pm$ 4,7	18
ЧСС, уд/мин	77,3 $\pm$ 9,9	72,6 $\pm$ 8,6	- 6
ЖЕЛ, л	1,44 $\pm$ 0,27	4,43 $\pm$ 0,32	> 3 раза
ЖИ, отн. ед.	39,7 $\pm$ 4,7	72,5 $\pm$ 5,5	81
Сила (правая рука), кг	23,8 $\pm$ 4,0	46,9 $\pm$ 6,2	97
Прыжок, см	31,2 $\pm$ 3,0	44,8 $\pm$ 4,9	44

Обозначение: * - различия между группами достоверны при $p < 0,05$;

САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление; ЧСС – частота сердечных сокращений; ЖЕЛ – жизненная емкость легких; ЖИ – жизненный индекс ($ЖИ = \text{ЖЕЛ} / \text{масса тела}$).

Наиболее важным показателем физического здоровья может служить величина аэробного потенциала организма. Она определяется на основе измерения физической работоспособности, с последующим расчетом МПК [1, 4]. При сравнении этого показателя в двух группах было найдено различие в 10% (рис. 1).

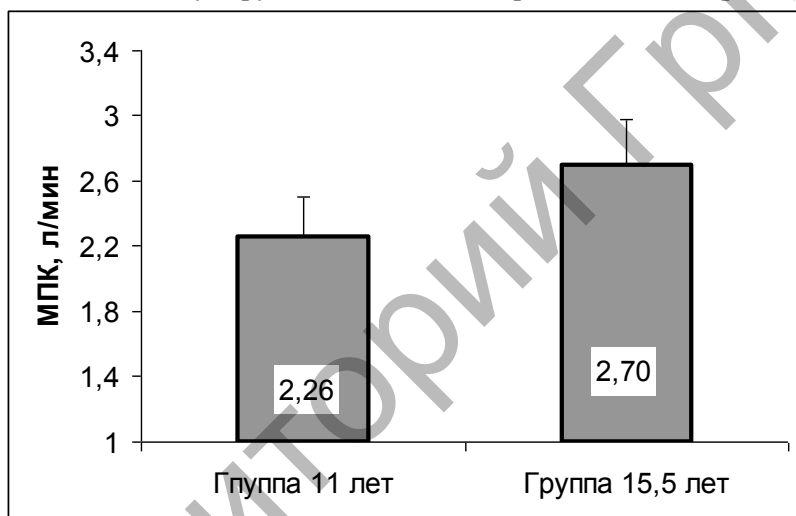


Рис. 1. Сравнение величины МПК, как показателя аэробной работоспособности в детей 11 и 15-16 лет (в среднем 15,5 лет).

Обозначения: МПК – максимальное потребление кислорода.

При этом МПК, как показатель потенциала физического здоровья положительно коррелировал с длиной тела (рост). Коэффициент корреляции был равен 0,729. Между величиной ЖЕЛ и МПК тоже была положительная связь ($r=0.670$). В плане профилактики и сохранения здоровья важно заметить, что у подростков в 15 лет обнаружена заметная корреляция ($r=0.612$) между массой тела и САД. Этой корреляции еще не было в группе 1. Интересно также отметить, что в постпубертаном периоде, у подростков в 15 лет имеется корреляция между силовыми характери-

стиками (кистевая динамометрия и высота выпрыгивания с места: для правой руки, $r = 0,609$ и $0,544$ – для левой). В возрастной группе 11 лет это корреляция была слабо выраженной ($r = 0,212$). Это подтверждает мнение о том, что проявление максимальной силы становится более существенным при достижении возраста 15-16 лет, когда созревает фосфагенная система мышц [2].

Заключение

Полученные данные свидетельствуют, что при переходе от препубертатного периода к постпубертатному все зарегистрированные характеристики: двигательного развития, двигательной подготовленности, функциональные возможности и аэробный потенциал. В среднем увеличились на 50%. При этом показатели физического развития выросли на 57%, двигательной подготовленности – на 71%, а МПК/кг – только на 10%. При этом были выявлены корреляции МПК, как показателем физического здоровья с рядом показателей физической подготовленности и развития, особенно в группе 15-летних подростков.

Библиографический список

1. Аулик, И. В. Определение физической работоспособности в клинике спорта / И. В. Аулик. – М. : Медицина, 1990. – 192 с.
2. Афанасьев, В. В. Спортивная метрология / В. В. Афанасьев, А. В. Муравьев, И. А. Осетров, П. В. Михайлов. – Ярославль : Изд-во ЯГПУ, 2009. – 242 с.
3. Калью П.И. Сущностная характеристика понятия «здоровье» и некоторые вопросы перестройки здравоохранения: обзорная информация. — М., 1988.
4. Карпман, В. Л. Тестирование в спортивной медицине / В. Л. Карпман, З. Б. Белоцерковский, И. А. Гудков. – М.: Физкультура и спорт, 1988. – 234 с.
5. Никифорова Г.С. Психология здоровья. - СПб.: Питер, 2003. - 607 с.
6. Разумов А. Н., Пономаренко В. А., Пискунов В. А., Здоровье здорового человека — Health of the healthy : (Основы восстановительной медицины). – М.: Медицина, 1996. — 413 с.
7. Яблоков А. В. Здоровье человека и окружающая среда. М., 2007. – 186 с.

А.В. Попова, О.Н. Семенова

ИЗУЧЕНИЕ РЕГИОНАРНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ ПРИ РАЗВИТИИ ВЫНОСЛИВОСТИ У СТУДЕНТОВ

Аннотация. В статье рассматривается тема изучения регионарного кровообращения при развитии выносливости у студентов. В рамках данной работы проведен анализ научной литературы по данной тематике, теоретически обоснована актуальность и целесообразность изучения темы, представлен инновационный метод исследования регионарного кровотока.

Ключевые слова: регионарное кровообращение, выносливость, студенты.

A.V. Popova, O.N. Semenova

STUDY OF REGIONAL BLOOD CIRCULATION IN THE DEVELOPMENT OF ENDURANCE IN STUDENTS

Annotation. The article deals with the topic of studying regional blood circulation in the development of endurance in students. Within the framework of this work, an analysis of the scientific literature on this topic is carried out, the relevance and expediency of studying the topic is theoretically justified, and an innovative method for studying regional blood flow is presented.

Keywords: regional blood circulation, endurance, students.

Введение

Ярко выраженные тенденции современного спорта заключается в повышении тренировочных и соревновательных нагрузок, усложнении техники выполнения спортивных упражнений, что предъявляет соответствующие требования к различным функциональным системам организма человека [5]. Одним из основных показателей, отражающих адаптационные реакции организма к физическим напряжениям, является уровень функциональных резервов аппарата кровообращения.

В процессе мышечной работы адаптационные изменения зависят не только от мощности и длительности нагрузки, но и от воздействия биоэнергетических возможностей (аэробных и анаэробных). Именно аэробные процессы являются физиологической основой общей выносливости и физической работоспособности [1-3]. Как мы знаем, уровень развития, и проявления выносливости напрямую зависит от функциональных возможностей систем организма, в нашем случае интерес представляет сердечно-сосудистая система. Направленность спортивной тренировки оказывает существенное влияние на морфологию сердца и системную гемодинамику [4].

С учетом всего вышесказанного, цель данной работы мы можем сформулировать как теоретически обосновать актуальность исследования регионарного кровообращения при развитии выносливости у студентов.

Материал и методы исследования

Основным методом на данном этапе работы стал анализ литературы по выбранной теме. Тема регионарного кровообращения при адаптации к нагрузкам различной направленности была объектом исследования многих авторов. Так, например, Мельников А.А. и Викулов А.Д. в своей работе «Особенности гемодинамики и реологических свойств крови у спортсменов с разной направленностью тренировочного процесса» [6], сравнивают изменения показателей микроциркуляции (вязкость крови, гематокрит, индекс транспорта кислорода кровью, текучесть крови и т.д.) у спортсменов с разной направленностью тренировочного процесса. И.Ф. Таминова в работе «Особенности сердечно-сосудистой системы и физической работоспособности у спортсменов высокой квалификации с разной спецификой видов спорта» [7], рассматривает высококвалифицированных спортсменов на группы в зависимости от специфики вида спорта («на выносливость», «на силу» и т.д.) и сравнивает показатели функционирования сердечно сосудистой системы (размеры и объемы предсердий и желудочков, диаметр кровеносных сосудов, ударный объем и т.д.).

Результаты

Проанализировав научную литературу по данной тематике, мы можем сделать вывод, что исследования регионарного кровотока, как характеристики движения крови в системах органов и тканей, относящихся к одной области тела, немногочисленны и противоречивы. Большая часть работ посвящена особенностям адаптации регионарного кровообращения у спортсменов высокой квалификации, что с одной стороны логично, ведь проследив изменения рассматриваемых нами показателей можно скорректировать процесс тренировки, и тем самым, повысить ее эффективность, но с другой стороны, исследования этих показателей на более «раннем» уровне, в студенчестве, может помочь студентам добиться наиболее высоких успехов в спорте и избежать проблем со здоровьем, в частности заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Еще одним выводом является то, что методы, для определения показателей микроциркуляции, рассмотренные в исследованиях, достаточно сложны и длительны по времени.

Заключение

Данные проведенного нами анализа литературы свидетельствуют, что тема регионарного кровообращения именно у студентов и именно при развитии такого физического качества как выносливость, является актуальной для исследования, она обусловлена прямой зависимостью работоспособности от выносливости организма, которую можно повысить благодаря улучшению общей выносливости, как основного физического качества. Также актуальность темы подтверждается отсутствием исследований по данной тематике, появлением новых методов исследования показателей микроциркуляции. Примером может служить метод исследования регионарного кровообращения с помощью высокочастотного ультразвукового доплерографа. В основу данного метода положена регистрация доплеровского сдвига частот, вызванного отражением ультразвукового сигнала от форменных элементов крови. Данные представляются на экране монитора в виде цветной доплерограммы, по которой можно визуально определить тип преобладающего кровотока, что в разы облегчает процедуру проведения исследования.

Библиографический список

1. Агаджанян М.Г., Бурякин Ф.Г. Кардиологические показатели, отражающие долговременную и срочную адаптацию борцов к нагрузкам // Теор. и практ. физ культуры. – 2002. – №2. – 8 с.
2. Белоцерковский З.Б., Любина Б.Г. Гемодинамическая реакция при статических и динамических физических нагрузках у спортсменов // Физиол. человека. – 2002. – Том 28, №2. – 94 с.
3. Белоцерковский З.Б. Эргометрические и кардиологические критерии физической работоспособности у спортсменов. – М.: Советский спорт, 2005. – 312 с.
4. Викулов А.Д., Дратцев Е.Ю., Мельников А.А., Алевин В.В. Сосудистый тонус и регулярные физические нагрузки // Физиология человека. 2009. Т. 35, № 5. – 133 с.
5. Земцовский Э.В. Спортивная кардиология. – СПб.: Гиппократ, 1995. – 448 с.
6. Мельников А.А., Викулов А.Д. Особенности гемодинамики и реологических свойств крови у спортсменов с разной направленностью тренировочного процесса // Теор. и практ. физ. культуры, 2003. – №1. – 26 с.
7. Таминова И.Ф. Особенности сердечно-сосудистой системы и физической работоспособности у спортсменов высокой квалификации с разной спецификой видов спорта. М.: Физкультура и спорт, 2011. – 87 с.

УДК 612.13

А.Ю. Балина, О.Н. Семенова

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИЗУЧЕНИЯ РЕГИОНАРНОГО КРОВОТОКА МЕТОДОМ ДОППЛЕРОГРАФИИ ПРИ РАЗВИТИИ СИЛОВЫХ СПОСОБНОСТЕЙ

Аннотация. Статья посвящена исследованию регионарного кровотока методом доплерографии при воздействии на организм мышечных нагрузок. В статье рассмотрены параметры,

характеризующие движение крови по сосудам, механизмы изменения и регуляции кровообращения. Также проанализированы данные о распределении кровотока в покое и при физических нагрузках. Показаны преимущества инновационного метода доплерографии для изучения регионарного кровотока.

Ключевые слова: регионарный кровоток, доплерография, гемодинамика, силовые способности.

A.Yu. Baldina, O.N. Semenova

THEORETICAL SUBSTANTIATION OF THE STUDY OF REGIONAL BLOOD FLOW BY DOPPLEROGRAPHY IN THE DEVELOPMENT OF POWER ABILITIES

Annotation. The article is devoted to the study of regional blood flow by dopplerography under the influence of muscle loads on the body. The article describes the parameters that characterize the movement of blood through the vessels, the mechanisms of change and regulation of blood circulation. Data on the distribution of blood flow at rest and during physical activity were also analyzed. The advantages of the innovative method of dopplerography for the study of regional blood flow are shown.

Key words: regional blood flow, dopplerography, hemodynamics, strength abilities.

Введение

Известно, что воздействие физических нагрузок на организм приводит к изменениям адаптивного характера во всех звеньях системы кровообращения, что определяет функциональную устойчивость организма. Адаптация к мышечной деятельности является системным ответом организма, направленным на достижение высокой тренированности с минимальной физиологической ценой. В основе этого динамического процесса лежит формирование новой программы реагирования, которая определяется внешними и внутренними условиями деятельности. Физическая нагрузка сопровождается перераспределением кровотока в пользу работающих мышц. Поэтому актуальным является изучение региональной гемодинамики при адаптации сосудистой системы в условиях воздействия мы-

шечных нагрузок. Одним из методов изучения периферического кровообращения является доплерография. В связи с вышесказанным цель исследования – теоретически обосновать целесообразность изучения регионарного кровотока методом доплерографии при развитии силовых способностей.

Методы исследования

Методологическую основу исследования составляют общенаучные методы, к которым относятся теоретический анализ научно-методической литературы, синтез, индукция, обобщение опыта.

Результаты

В процессе анализа научно-методической литературы было установлено, что движение крови по сосудам характеризуют такие параметры, как величина и скорость кровотока, давление крови в артерии, капилляре, веноле, сопротивление кровотоку в различных отделах органного сосудистого русла, объем крови в органе. Чем интенсивнее обмен веществ в том или ином органе, тем выше расход крови в его сосудах. Приспособление местного кровотока к функциональным потребностям органов осуществляется, в основном, путем изменения сопротивления току крови, т.е. путем регуляции гидродинамического сопротивления (изменением просвета сосудов).

Было определено, что в условиях экономизации деятельности сердечно-сосудистой системы у спортсменов эффективно работают следующие механизмы кровообращения – снижение тонуса артериальных сосудов и интенсивный артериальный кровоток, обеспечивающие больший региональный минутный пульсовый объем, повышение венозного тонуса и лучший венозный возврат, связанный с артериальным притоком [3].

Перераспределение регионарного кровотока необходимо, чтобы условия для обменных процессов были благоприятными. В таблице 1 представлены данные о распределении кровотока в покое и во время физических нагрузок различной величины.

Как видно из таблицы, регионарный кровоток значительно изменяется при физических нагрузках. Усиление кровотока в работающих мышцах связано не только с увеличением сердеч-

ного выброса и артериального давления, но и с перераспределением объема циркулирующей крови. При максимальной динамической работе кровотока в мышцах возрастает в 15-20 раз, в венечных сосудах сердца в 4-5 раз, но уменьшается в почках, органах брюшной полости [2].

Таблица 1

Распределение кровотока в покое и во время физических нагрузок различной величины

Поглощение О ₂ , мл/(мин*м ²)	Физическая нагрузка			
	Покой	Лёгкая	Средняя	Максимальная
	140	400	1200	2000
Область	Кровоток, мл/мин			
Скелетные мышцы	1200	4500	12 500	22 000
Сердце	250	350	750	1000
Головной мозг	750	750	750	750
Чревная	1400	1100	600	300
Почечная	1100	900	600	250
Кожа	500	1500	1900	600
Прочие органы	600	400	400	100
Сердечный выброс	5800	9500	17 500	25 000

У спортсменов с силовой направленностью тренировочного процесса признаки экономизации функции сердца выражены слабо, прослеживается тенденция к сдвигу систолического и диастолического артериального давления к верхним границам нормы. Не наблюдается адаптационных изменений сосудистого тонуса – интенсивность кровотока повышается как на уровне артерий, так и на уровне сосудов среднего и мелкого калибра, что приводит к повышению артериального давления уже в состоянии относительного покоя. У спортсменов с силовой направленностью тренировочного процесса повышен тонус венозных сосудов на уровне посткапилляров и отток крови из артерий в вены [1].

Изучение регионарного кровотока методом доплерографии имеет ряд преимуществ. Ультразвуковая доплерография позволяет проводить наблюдения в режиме реального времени, является неинвазивным и безопасным методом исследования параметров циркуляции крови и состояния сосудов, не имеет побочных эффектов и лучевой нагрузки, поэтому может применяться и у детей [4].

Заключение

Анализ литературных данных по обсуждаемой теме позволяет заключить, что физиологические механизмы, лежащие в основе адаптации сосудистой системы у спортсменов, зависят от направленности тренировочного процесса. Изменения в работе сердечно-сосудистой системы на уровне периферического звена при тренировке, с проявление различных физических качеств обусловлены, в первую очередь, перестройкой метаболических процессов и направлены на создание благоприятных условий для максимального извлечения кислорода из крови в ткани и, в конечном счете, на достижение оптимального обеспечения организма энергией.

Библиографический список

1. Кудря О. Н., Кирьянова М. А., Капилевич Л. В. Особенности периферической гемодинамики спортсменов при адаптации к нагрузкам различной направленности // Бюллетень сибирской медицины. 2012. №3. С.48-52.
2. Смирнов В. М., Дубровский В. И. Физиология физического воспитания и спорта : учеб. для студ. сред. и высш. учебных заведений. Москва : Изд-во ВЛАДОС-ПРЕСС. 2002. 608 с.
3. Состояние регионального кровообращения у спортсменов высокой квалификации // Вестник спортивной науки / Дратцев Е.Ю., Викулов А.Д., Мельников А.А., Алехин В.В. Ярославль 6 Изд-во ЯГПУ, 2008. № 3. С. 32-35.
4. Ультразвуковая доплерография: сущность метода и его преимущества : сайт. URL: <https://www.rumex.ru/information/Doppler-ultrazvukovoe-issledovanie-97> (дата обращения 17.11.2020).

А.А. Попутьева

ОСОБЕННОСТИ ЗАНЯТИЙ ГИМНАСТИКОЙ С МЛАДШИМИ ШКОЛЬНИКАМИ

Аннотация: Статья посвящена изучению особенностей проведения занятий гимнастикой, с учениками начальной школы. Была изучена специфика занятий гимнастикой с младшими школьниками и подобраны наиболее рациональные формы, способы и методы.

Ключевые слова: гимнастика, физическое воспитание, специфика проведения, двигательные качества, начальная школа.

Poputeva A.A.

FEATURES OF GYMNASTICS CLASSES WITH YOUNGER STUDENTS

Abstract: The article is devoted to the study of the peculiarities of conducting gymnastics classes with primary school students. The specifics of conducting gymnastics classes with younger students were studied and the most rational forms, methods and methods were selected.

Keywords: gymnastics, physical education, specifics of the exercise, motor qualities, primary school.

Широкие возможности использования и применения гимнастики в целях гармоничного физического и духовного развития личности вошли в основу государственных программ физического воспитания детей дошкольного, школьного возраста, учащихся средних и высших учебных заведений. Гимнастика направлена на всестороннее развитие и укрепления организма, овладение общими основными движениями, на овладение общими основами движений, на воспитание физических, моральных и волевых качеств, необходимых во всех областях деятельности человека[1]. К особенностям гимнастики, позволяющим

использовать ее в качестве средства физического воспитания школьников, относится:

- Разностороннее воздействие на организм. Подбираются упражнения, влияющие на все части опорно-двигательного аппарата, на функциональное состояние различных систем организма. Решаются задачи сопряжения процессов приобретения двигательных навыков и функциональной подготовки, а также совершенствования физических качеств: силы, быстроты, выносливости, гибкости, ловкости.

- Разнообразие упражнений и средств гимнастики. Уникальность гимнастики заключается в практически неограниченном количестве средств гимнастики разнообразных упражнений. Любые задачи, возникающие в процессе физического воспитания и спортивного совершенствования, можно решить с помощью соответствующих гимнастических упражнений оздоровительного, прикладного, спортивного характера, используя их с различной степенью интенсивности. [7]

- Избирательное воздействие упражнений. Часто возникающие узкие задачи по развитию определенных качеств, укреплению отдельных групп мышц, суставов, профилактике и восстановлению каких-либо функций организма, возможно, решить подбором гимнастических упражнений и методикой их использования.

- Регламентация занятий и точное регулирование нагрузки. Гимнастическая методика характерна не только строгой регламентацией программы движений, но и относительно строгими ограничениями в организации занятий, в дозировке упражнений и регулировании нагрузки. Регулирование нагрузки в занятиях осуществляется путем подбора упражнений, их чередования, количества повторений, изменением темпа, применяя отягощения и другое.

Младший школьный возраст является наиболее благоприятным периодом развития двигательных качеств. В этом возрасте интенсивно формируются все отделы двигательного аппарата, развиваются двигательные качества: гибкость, быстрота, сила, ловкость и выносливость, но их развитие происходит неравномерно.

Методы исследования

Теоретический анализ и обобщение данных специальной и научной литературы.

Результаты исследования

Были изучены особенности проведения занятий гимнастикой с младшими школьниками и подобраны наиболее рациональные формы, способы и методы.

- Строевые и порядковые упражнения. Эти упражнения наиболее разнообразные. Овладение ими помогает учащимся 1-4 классов лучше ориентироваться в зале, запоминать свое место в строю, успешно выполнять построение и перестроение.

- Упражнения в лазанье и перелезании. Лазанье и перелезание проводят в основном при одновременной опоре рук и ног на гимнастической стенке, скамейках, гимнастическом коне, бревне. Они помогают развитию ориентировки в пространстве, координационных возможностей, смелости.

- Общеразвивающие упражнения выполняют три функции:
 - помогает ученику быстрее запомнить направление;
 - развивает двигательные качества: силу, ловкость, быстроту;
 - используется как подготовительные упражнения при обучении более сложным движениям.

Упражнения подбираются так, чтобы они выполняли избирательное воздействие, для формирования осанки, ориентировки в пространстве и т.д.

Выполняя упражнения с предметами, дети ориентируются на сам предмет, его цвет, вес, размер, местонахождение, обучаются особым способам манипулирования предметом.

- Акробатические упражнения. Акробатические упражнения в программе по физической культуре начальных классов представлены как элементы. Это группировка лежа на спине, перекаты в положении лежа в разные стороны, кувырки вперед, стойка на лопатках, кувырки назад и т. д. Акробатические упражнения разносторонне влияют на организм детей, особенно на вестибулярный аппарат. Использование акробатических упражнений помогает развитию ориентировки в пространстве и чувства равновесия.

- Упражнения в равновесии. Упражнения в равновесии способствуют формированию правильной осанки, выработке навыка держать тело в необходимом положении. Эти упражнения вводятся как для обучения какому-то действию с сохранением равновесия, так и для воспитания чувства равновесия на определенной высоте в статическом или динамическом положении.

- Ритмическая гимнастика считается разновидностью оздоровительной гимнастики. Комплекс упражнений составляется из общеразвивающих художественной гимнастики, стилизованных форм ходьбы, бега, прыжков и других, несложных по технике исполнения упражнений. Важным элементом ритмической гимнастики является музыкальное сопровождение. Темп движений и интенсивность выполнения упражнений задается ритмом музыкального сопровождения.

Заключение

Гимнастические формы и методики организации и проведения занятий дают огромные возможности по творческому освоению детьми сложных форм двигательной активности, которые предполагают повышенный уровень произвольности движения. Повышается интерес к таким занятиям, уровень физической подготовленности, развитие физических качеств, улучшение функциональной деятельности органов и систем организма. Развиваются психические качества: внимание, память, воображение, восприятие. Происходит воспитание нравственных качеств, коммуникабельности. Создаются благоприятные условия для развития познавательной активности детей, их мышления, самовыражения.

Библиографический список

1. Амурская О.В. Гимнастика в системе физического воспитания образовательных учреждений: учебно-методическое пособие [Электронный ресурс] /О.В. Амурская, Я.А. Стрелкова, А.В. Прокопенко. – Белгород: ОГАОУ ДПО «БелИРО», 2020 – 112 с. – Режим доступа: <https://beliro.ru/assets/resourcefile/168/posobie-po-gimnastike-.pdf>

2. Баёва Н. А., Погадаева О.В. Анатомия и физиология детей школьного возраста: Учебное пособие. – Омск: СибГУФК, 2003. – 56 с.
3. Баженова Н.А., Седалищева Е.О. Гимнастика. Строевые упражнения с методикой преподавания. Текущие и итоговые проверочные материалы – Барнаул: АлтГПА, 2012.
4. Гимнастика: учебное пособие. — СПб.: ЛГУ им. А. С. Пушкина, 2004.
5. Ильясов И.И. Структура процесса учения. — М.: Издательство московского университета, 1986.
6. Курамшин Ю.Ф. Теория и методика физической культуры /Ю.Ф Курамшин. — М.: Советский спорт, 2010. — 464 с.
7. Лебедихина Т.М. Гимнастика: теория и методика преподавания: учеб. пособие [Текст]/Т.М. Лебедихина. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2017. – 112 с.
8. Луури, Ю.Ф. Физическое воспитание детей школьного возраста / Ю.Ф. Луури. – М.: Феникс, 2003. – 303 с.
9. Петров П.К. Методика преподавания гимнастики в школе – М.: Гуманит. изд. центр ВЛАДОС, 2000. — 470 с.
10. Смоленский В.М. Гимнастика и методика преподавания –М.: Физкультура и спорт, 1987. — 365 с.

УДК 796.015.55

А.П. Суслова

ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЛЕКСА УПРАЖНЕНИЙ НА НЕСТАБИЛЬНОЙ ОПОРЕ ДЛЯ РАЗВИТИЯ РАВНОВЕСИЯ

Аннотация. В статье представлены результаты применения тренировочной программы, включающей в себя упражнения на равновесие с использованием балансировочных платформ. Программа включала в себя семь упражнений на баланс, выполняемых в статическом и динамическом режимах. Результаты в контрольных тестах показали, что разработанный и апробированный комплекс упражнений позволяет повысить способность человека сохранять равновесие.

Ключевые слова: координационные способности, равновесие, баланс, нервно-мышечная координация, тренировочная программа.

A. P. Suslova

APPLICATION OF A SET OF EXERCISES ON AN UNSTABLE SUPPORT FOR THE DEVELOPMENT OF BALANCE

Annotation. The article presents the results of the application of the training program, which includes balance exercises using balancing platforms. The program included seven balance exercises performed in static and dynamic modes. The results in the control tests showed that the developed and tested set of exercises allows you to increase the ability of a person to maintain balance.

Keywords: coordination abilities, balance, balance, neuromuscular coordination, training program.

Введение

Способность сохранять равновесие считается одним из специфических координационных качеств человека. В биомеханике положение равновесия определяется как состояние, при котором сумма внешних сил и моментов сил, действующих на тело, равны нулю [3]. Условием сохранения равновесия является расположение вертикальной проекции общего центра масс (ОЦМ) тела в пределах площади опоры [2]. Управление движениями и корректировка положения тела человека и его звеньев в пространстве осуществляется на основе сигналов от зрительных, вестибулярных, проприоцептивных и тактильных анализаторов [1]. Упражнения на нестабильной опоре оказывают комплексное воздействие и помогают улучшить «мышечное чувство», повысить точность и согласованность работы различных групп мышц при сохранении равновесия.

Цель исследования: оценить влияние тренировочной программы, включающей упражнения на нестабильной опоре, на способность занимающихся сохранять равновесие.

Методы и организация исследования

В эксперименте приняли участия 10 человек в возрасте от 20 до 30 лет, которые занимались в течение 1 месяца 2-3 раза в неделю. Упражнениям на равновесие в структуре занятия отводилось 15-30 минут. Содержание упражнений, объем и интенсивность нагрузки регулировались исходя из направленности основной части занятия и текущего состояния испытуемых. Разработанный специализированный комплекс упражнений, направленный на развитие равновесия, включал в себя семь двигательных заданий (изометрическое упражнение на одной ноге, приседания, выпады, ягодичный мост, отжимание с одной рукой, складка, планка), выполнявшихся на балансировочных платформах: подушка и BOSU.

Оценку эффективности разработанного комплекса упражнений на равновесие проводили с помощью адаптированной координационной пробы Ромберга в двух вариантах: 1) Ноги испытуемого стоят на одной линии. Пятка одной упирается в носок другой. Глаза закрыты, руки вытянуты вперед, пальцы несколько разведены и расслаблены. 2) Стоя на одной ноге, опираясь подошвой другой ноги о коленную чашечку опорной. Глаза открыты, руки внизу вдоль тела. После удержания указанного положения в течение 30 секунд закрыть глаза.

Достоверность различий между исходными и конечными результатами определяли с помощью парного двухвыборочного Т-теста.

Результаты исследования

На рисунке 1 представлены результаты проведенного исследования. В пробах Ромберга со зрительным контролем и без него было зарегистрировано достоверное ($p < 0,05$) увеличение времени сохранения равновесия в конце периода наблюдения. Улучшение результатов в контрольных тестах составило от 10% до 20%.

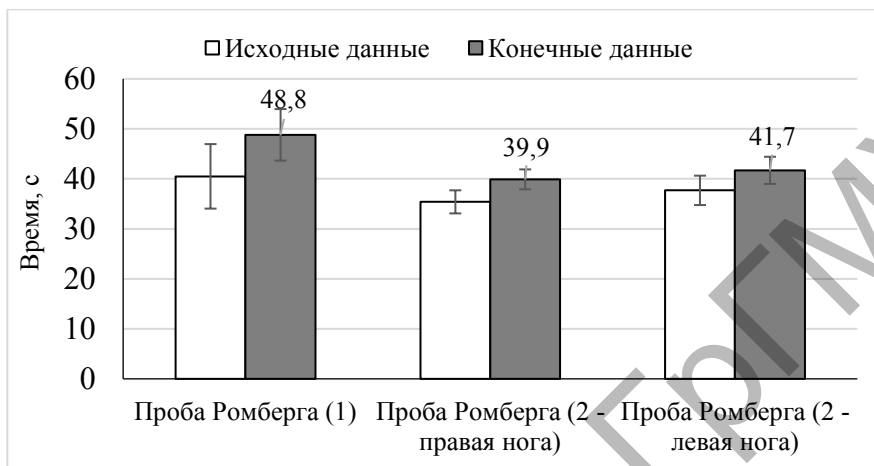


Рис. 1 Сравнительная характеристика исходных и конечных показателей

Обозначения: * – различия достоверны при $p < 0,05$.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют об улучшении способности занимающихся сохранять равновесие после реализации тренировочной программы с использованием упражнений на нестабильной опоре. Следует отметить, что существенный прогресс результатов в контрольных упражнениях произошел за относительно короткий период времени, что может свидетельствовать о значительных резервах повышения уровня развития этого координационного качества у лиц, вошедших в группу наблюдения.

Библиографический список

1. Друшевская, В.Л. Физиологические особенности пространственной адаптации у акробатов разной квалификации / В.Л. Друшевская // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2010. – №9. – С. 53.
2. Муравьев, А.В. Введение в биомеханику физических упражнений: учебное пособие / А.В. Муравьев, П.В. Михайлов, И.А. Осетров. – Ярославль: Изд-во ЯГПУ, 2014. – 240 с.
3. Попов, Г.И. Биомеханика двигательной деятельности / Г.И. Попов, А. В. Самсонова. – М.: Академия, 2013. – 320 с.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Акулич Николай Васильевич – УЗ «Национальная антидопинговая лаборатория», Республика Беларусь, zinchuk@grsmu

Балабанович Татьяна Игоревна – ассистент 1-й кафедры внутренних болезней, УО «Гродненский государственный медицинский университет», Республика Беларусь, г. Гродно, TatiBo1@yandex.ru

Балина Александра Юрьевна – магистрант, ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», balina.sasha@yandex.ru

Билецкая Елена Степановна – аспирант, ассистент кафедры нормальной физиологии УО «Гродненский государственный медицинский университет», Республика Беларусь, г. Гродно, biletskaya.e@inbox.ru.

Булаева Светлана Владимировна – канд. биол. наук, доцент кафедры спортивных дисциплин ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», bulaevasw@yandex.ru

Велисейчик Ангелина Александровна – студент, Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, glutkina@mail.ru

Виндберген Урсула – профессор, Венский медицинский университет, Австрия, ursula.windberger@meduniwien.ac.at

Волкова Елена Леонидовна – старший лаборант кафедры медико-биологических основ спорта и теории физической культуры ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», volkovaele@mail.ru

Глуткин Александр Викторович – доцент кафедры детской хирургии УО «Гродненский государственный медицинский университет», Республика Беларусь, Гродно, glutkinalex@mail.ru

Глуткин Сергей Викторович – канд. мед. наук, доцент кафедры нормальной физиологии УО «Гродненский государственный медицинский университет», Республика Беларусь, Гродно, glutkin@mail.ru

Глуткина Наталия Викторовна – канд. мед. наук, старший преподаватель кафедры 1-я кафедра внутренних болезней УО «Гродненский государственный медицинский университет», Республика Беларусь, Гродно, gt_kafedra@yandex.ru

Гуляй Ирина Эдвардовна – канд. биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории УО «Гродненского государственного медицинского университета», Республика Беларусь, Гродно, irinagulyai@gmail.com.

Гурфинкель Юрий Ильич – докт. мед. наук, ведущий научный сотрудник медицинского научно-образовательного центра, Отдел внутренних болезней, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Россия, Москва, kadanovairina@mail.ru

Доможилова Анна Александровна – канд. биол. наук, доцент кафедры профилактической медицины и основ здоровья Национального государственного университета физической культуры, спорта и здоровья имени П.Ф. Лесгафта, Санкт-Петербург, profmed@lesgaft.spb.ru.

Емануйлова Наталья Владимировна – канд. мед. наук, ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, zuboval@mail.ru

Ермолинский Петр Борисович – аспирант МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, ermolinskiy.pb15@physics.msu.ru

Замышляев Андрей Владимирович – канд. мед. наук, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, dr.avz@mail.ru

Засимович Владимир Николаевич – заведующий отделением сосудистой хирургии УЗ «Брестская областная клиническая больница», Республика Беларусь, Брест, zasimovich.v@gmail.com

Зеленцова Александра Сергеевна – ассистент, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, zelentsova@bsu.edu.ru

Зинчук Виктор Владимирович – докт. мед. наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, zinchuk@grsmu.by

Иоскевич Николай Николаевич – докт. мед. наук, профессор 1-й кафедры хирургических болезней «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно. innugno@mail.ru

Каданова Ирина Михайловна – аспирант, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Россия, Москва, kadanovairina@mail.ru

Капков Арсений Алексеевич – сотрудник кафедры общей физики и волновых процессов, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, arseniy.ka@mail.ru

Кислов Николай Викторович – канд. мед. наук, зам. главного врача областной онкологической больницы г. Ярославль, yar_okob@mail.ru

Ковальчук-Болбатун Татьяна Викторовна – аспирант, 2-я кафедра хирургических болезней, УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, 7881632@mail.ru.

Комлев Василий Леонидович – ассистент кафедры клинической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Ярославского государственного медицинского университета, olga2017@ysmu.ru

Королёв Пётр Матвеевич – ассистент кафедры нормальной физиологии УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь, korpet@mail.ru

Луговцов Андрей Егорович – научный сотрудник, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, anlug1@gmail.com

Малышева Юлия Викторовна – аспирант кафедры медицины, ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», yu.v.malysheva@yandex.

Масина Ирина Вячеславовна – канд. мед. наук, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, ivmasina@mail.ru

Масленникова Юлия Львовна – канд. биол. наук, доцент, Рыбинская государственная авиационная технологическая академия имени П.А.Соловьёва, maslennikova_j@mail.ru

Михайлов Павел Валентинович – канд. биол. наук, доцент кафедры спортивных дисциплин ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», mpv.yar@yandex.ru

Муравьев Алексей Васильевич – докт. биол. наук, профессор кафедры медико-биологических основ спорта и теории физической культуры ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», alexei.47@mail.ru

Муравьев Антон Алексеевич – доцент, канд. биол. наук ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет», alexei.47@mail.ru

Незнанов Антон Игоревич – Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, neznanov.ai@mail.ru

Никитин Сергей Юрьевич – доцент кафедры общей физики и волновых процессов физического факультета, отделение радиофизики, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, sergeynikitin007@yandex.ru

Норик Светлана Федоровна – врач, УЗ «Гродненская университетская клиника» (поликлиника), Гродно, nog-iksvteod@yandex.ru

Остроумов Роман Сергеевич – научный сотрудник кафедры медико-биологических основ спорта и теории физической культуры ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», masterromario@mail.ru

Петроченко Елена Петровна – канд. биол. наук, ст. преп. кафедры медицины, ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», epg.84@mail.ru

Попова Александра Васильевна – магистрант, ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», porovaalexandra97@mail.ru

Попутьева Анастасия Алексеевна – магистрант, ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», nastya-popyteva@bk.ru

Приезжев Александр Васильевич – доцент кафедры общей физики и волновых процессов Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, avp2@mail.ru

Румянцев Кирилл Игоревич – магистрант, ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», ya.kirill2431@yandex.ru

Семенов Алексей Николаевич – младший научный сотрудник кафедры автоматизации научных исследований, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, semenov@physics.msu.ru

Семенова Ольга Николаевна – канд. биол. наук, доцент кафедры медико-биологических основ спорта и теории физической культуры, ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», olgasemionova@yandex.ru

Сёмуха Александра Руслановна – студентка 4 курса педиатрического факультета УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, zinchuk@grsmu.by

Скоркина Марина Юрьевна – докт. биол. наук, доцент, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, skorkina@bsu.edu.ru

Смотрин Сергей Михайлович – докт. мед. наук, профессор, 2-я кафедра хирургических болезней, УО «Гродненский

государственный медицинский университет», Гродно,
zinchuk@grsmu.by

Сорогин Артем Дмитриевич – магистрант, ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», olgasemionova@yandex.ru

Суслова Алена Павловна – магистрант, ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», suslova.alen@yandex.ru

Сухоцкий Андрей Сергеевич – студент 5 курса педиатрического факультета УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, zinchuk@grsmu.by

Сяхович Виталий Эдуардович – УЗ «Национальная антидопинговая лаборатория», Республика Беларусь, zinchuk@grsmu.by

Тараненко Александр Сергеевич – аспирант, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, taranenko@bsu.edu.ru

Тихомирова Ирина Александровна – докт. биол. наук, профессор кафедры медицины, ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», i.tikhomirova@yspu.org

Фираго Маргарита Эдуардовна – ассистент кафедры нормальной физиологии УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, rainbow@grodno.net.

Ходосовский Михаил Николаевич – доцент кафедры патологической физиологии им. Д.А. Маслакова УО «Гродненский государственный медицинский университет», к.м.н., Гродно, hodosowsky@grsmu.by

Цаллагова Роза Борисовна, докт. мед. наук, профессор, заведующая кафедрой профилактической медицины и основ здоровья Национального государственного университета физической культуры, спорта и здоровья имени П.Ф. Лесгафта, Санкт-Петербург, e-mail: profmed@lesgaft.spb.ru;

Черногубова Виктория Алексеевна – магистрант, ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», chernogubova.007@gmail.com

Четвертакова Жанна Евгеньевна – ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, jeannesav@yandex.ru

Шевченко Татьяна Сергеевна – канд. биол. наук, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, shevchenko_ts@bsu.edu.ru

Шелудько Сергей Михайлович – студент 4 курса педиатрического факультета УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, zinchuk@grsmu.by

Шин Сехён – Корейский университет, 145 Анам-ро, Анам-дон, Сонбук-гу, Сеул, Корея, lexerdshin@korea.ac.kr

Ширшин Евгений Александрович – старший научный сотрудник кафедры квантовой электроники, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, eshirshin@gmail.com

Шишко Виталий Иосифович – заведующий 2-й кафедры внутренних болезней, кандидат медицинских наук, доцент УО «Гродненский государственный медицинский университет», Республика Беларусь, г. Гродно, vshyshko@mail.ru

Якимов Борис Петрович – младший научный сотрудник кафедры квантовой электроники, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Bp.jakimov@physics.msu.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Akulich Nikolay Vasilievich – Healthcare Institution "National Anti-Doping Laboratory", Republic of Belarus, zinchuk@grsmu

Balabanovich Tatyana Igorevna – Republic of Belarus, Grodno, EE "Grodno State Medical University" Assistant of the 1st Department of Internal Medicine, TatiBo1@yandex.ru

Balina Alexandra Yurievna – Master's degree candidate from Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky, balina.sasha@yandex.ru

Biletskaya Elena Stepanovna – post-graduate student, assistant of the Department of Normal Physiology, Grodno State Medical University, biletskaya.e@inbox.ru.

Bulaeva Svetlana Vladimirovna – Associate Professor of the Department of Sports Disciplines Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky, bulaevasw@yandex.ru

Chernogubova Victoria Alekseevna – Master's degree candidate from Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky, chernogubova.007@gmail.com

Chetvertakova Zhanna Evgenievna – Assistant of the Department of Propedeutics of Internal Diseases of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Yaroslavl State Medical University" of the Ministry of Health of Russia jeannesav@yandex.ru

Domozhilova Anna Aleksandrovna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Preventive Medicine and Fundamentals of Health of the National State University of Physical Culture, Sports and Health named after P.F. Lesgaft, profmed@lesgaft.spb.ru

Emanuylova Natalya Vladimirovna – Assistant of the Department of Propedeutics of Internal Diseases of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Yaroslavl State Medical University" of the Ministry of Health of Russia, zuboval@mail.ru

Ermolinsky Petr Borisovich – postgraduate student of Moscow State University M.V. Lomonosov, Moscow, Russia, ermolin-skiy.pb15@physics.msu.ru

Firago Margarita Eduardovna - Assistant of the Department of Normal Physiology, Grodno State Medical University, rainbow@grodno.net.

Glutkin Aleksandr Viktorovich – Associate Professor of the Department of Pediatric Surgery, Grodno State Medical University, glutkinalex@mail.ru

Glutkin Sergei Viktorovich – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Normal Physiology, Grodno State Medical University, glutkin@mail.ru.

Glutkina Natalia Viktorovna – Candidate of Medical Sciences, Senior Lecturer of the Department of the 1st Department of Internal Diseases, Grodno State Medical University, gt_kafedra@yandex.ru

Gulai Irina Edvardovna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Leading Researcher of the Research Laboratory of the EE "Grodno State Medical University, irinagulyai@gmail.com

Gurfinkel Yuri Ilyich – Lead Researcher, Medical Research and Education Center, Department of Internal Diseases, Lomonosov Moscow State University, yugurf@yandex.ru

Ioskevich Nikolai Nikolaevich – Doctor of Medical Sciences, Professor of the 1st Department of Surgical Diseases, Grodno State Medical University, inngrno@mail.ru

Kadanova Irina Michailovna – post-grad., Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, kadanovairina@mail.ru

Kapkov Arseny Alekseevich – staff member of the Department of General Physics and Wave Processes, Lomonosov Moscow State University, arseniy.ka@mail.ru

Khodosovsky Mikhail Nikolaevich – Associate Professor of the Department of Pathological Physiology, Grodno State Medical University, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, hodosowsky@grsmu.by

Kislov Nikolay Viktorovich – Deputy Chief Medical Officer of the Regional Cancer Hospital in Yaroslavl, yar_okob@mail.ru

Komlev Vasily Leonidovich – Assistant, Department of Clinical Dentistry and Maxillofacial Surgery, Yaroslavl State Medical University, olga2017@ysmu.ru

Korolev Piotr Matveyevich – Assistant of the Department of Normal Physiology, Grodno State Medical University, Grodno, Belarus, korpet@mail.ru

Kovalchuk-Bolbatun Tatyana Viktorovna – post-graduate student, 2nd Department of Surgical Diseases, Grodno State Medical University, 7881632@mail.ru.

Lugovtsov Andrey Egorovich – Senior Researcher in the Department of General Physics and Wave Processes, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, anlug1@gmail.com

Malysheva Yulia Viktorovna – postgraduate student, Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky, yu.v.malysheva@yandex

Masina Irina Vyacheslavovna – Associate Professor of the Department of Propedeutics of Internal Diseases of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Yaroslavl State Medical University" of the Ministry of Health of Russia, ivmasina@mail.ru

Maslennikova Yulia Lvovna – Associate Professor, Rybinsk State Aviation Technological Academy named after P.A. Solovyov, maslennikova_j@mail.ru

Mikhailov Pavel Valentinovich – Associate Professor of the Department of Sports Disciplines, Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky, mpv.yar@yandex.ru

Muravyov Alexey Vasilyevich – Professor of the Department of medical and biological basic of sport and The Theory of Physical Culture, Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky, alexei.47@mail.ru

Muravyov Anton Alekseevich – Professor, Yaroslavl State University, alexei.47@mail.ru

Neznanov Anton Igorevich – gr.st., Lomonosov Moscow State University, neznanov.ai@mail.ru

Nikitin Sergey Yuryevich – Assistant Professor in the Department of General Physics and Wave Processes of the Faculty of

Physics, Department of Radiophysics, Moscow State University, Moscow, sergeynikitin007@yandex.ru

Norik Svetlana Fyodorovna – doctor, Grodno University Clinic, noriksvteod@yandex.ru

Ostroumov Roman Sergeevich – Researcher, Department of medical and biological basic of sport and The Theory of Physical Culture, Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky, masterromario@mail.ru

Petrochenko Elena Petrovna – lecturer of the Department of safety, Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky, ep84@mail.ru

Popova Alexandra Vasilievna – Master's degree candidate from Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky, popovaalexandra97@mail.ru

Poputeva Anastasia Alekseevna – Master's degree candidate from Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky, nastya-popyteva@bk.ru

Priezzhev Alexander Vasilyevich – Associate Professor, Lomonosov Moscow State University, avp2@mail.ru

Rumyantsev Kirill Igorevich – Master's degree candidate from Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky, ya.kirill2431@yandex.ru

Semenov Alexey Nikolaevich – Associate Research Fellow in the Department of Research Automation, Lomonosov Moscow State University, semenov@physics.msu.ru

Semenova Olga Nikolaevna – Associate Professor of the Department of medical and biological basic of sport and The Theory of Physical Culture, Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky, olgasemionova@yandex.ru

Sheludko Sergey Mikhailovich – 4th year student of the pediatric faculty of the educational establishment, Grodno State Medical University, Grodno, zinchuk@grsmu.by

Shevchenko Tatyana Sergeevna – lecturer, Belgorod State National Research University shevchenko_ts@bsu.edu.ru

Shin Sehyun – Korea University, 145 Anam-ro, Anam-dong, Seongbuk-gu, Seoul, Korea, lexdshin@korea.ac.kr

Shirshin Evgenii Aleksandrovich – Senior Research Fellow in the Department of quantum electronics, Lomonosov Moscow State University, eshirshin@gmail.com

Shishko Vitaly Iosifovich – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Grodno State Medical University, Head of the 2nd Department of Internal Medicine, Republic of Belarus, Grodno, vshyshko@mail.ru

Skorkina Marina Yurievna – Associate Professor, Belgorod State National Research University, skorkina@bsu.edu.ru

Smotrin Sergey Mikhailovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, 2nd Department of Surgical Diseases, Grodno State Medical University, zinchuk@grsmu.by

Sorogin Artem Dmitrievich – Master's degree candidate from Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky, olgasemionova@yandex.ru

Sukhotsky Andrey Sergeevich – 5th year student of the pediatric faculty of Grodno State Medical University, zinchuk@grsmu.by

Suslova Alena Pavlovna – Master's degree candidate from Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky, suslova.alen@yandex.ru

Syakhovich Vitaly Eduardovich – Healthcare Institution "National Anti-Doping Laboratory", Republic of Belarus, zinchuk@grsmu.by

Syomukha Aleksandra Ruslanovna – 4th year student of the pediatric faculty of the Grodno State Medical University, zinchuk@grsmu.by

Taranenko Alexander Sergeevich – post-graduate student, Belgorod State National Research University, taranenko@bsu.edu.ru

Tikhomirova Irina Aleksandrovna – Professor of The Department of Medicine, Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky i.tikhomirova@yspu.org

Tsallagova Roza Borisovna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Preventive Medicine and Fundamentals of Health of the National State University of Physical Culture, Sports and Health named after P.F. Lesgaft, St. Petersburg, profmed@lesgaft.spb.ru

Veliseichik Angelina Aleksandrovna – student, Grodno State Medical University, glutkina@mail.ru

Zasimovich Vladimir Nikolaevich – Head of the Department of Vascular Surgery, Brest Regional Clinical Hospital, Brest, zasimovich.v@gmail.com

Volkova Elena Leonidovna – Laboratory assistant of the Department of medical and biological basic of sport and The Theory of Physical Culture, Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky, volkovaelenal@mail.ru

Windbergen Ursula – Medical University Vienna, Austria, ursula.windberger@meduniwien.ac.at

Yakimov Boris Pavlovich – Associate Researcher in the Department of quantum electronics, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, Bp.jakimov@physics.msu.ru

Zamyshlyaev Andrey Vladimirovich – Associate Professor of the Department of Propedeutics of Internal Diseases of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Yaroslavl State Medical University" of the Ministry of Health of Russia, dr.avz@mail.ru

Zelentsova Alexandra Sergeevna – ass., Belgorod State National Research University zelentsova@bsu.edu.ru

Zinchuk Victor Vladimirovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Normal Physiology, Grodno State Medical University, zinchuk@grsmu.by.

Репозиторий ГрГМУ

Научное издание

**РОЛЬ МИКРОРЕОЛОГИИ И МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ
ПРИ РАЗНЫХ ВАРИАНТАХ ОБЕСПЕЧЕНИЯ
ОРГАНИЗМА КИСЛОРОДОМ**

Сборник материалов международного симпозиума

Научные редакторы

зав. кафедрой нормальной физиологии Гродненского
государственного университета, Республика Беларусь

докт.мед.наук, профессор

Виктор Владимирович Зинчук

доктор биологических наук, профессор

Алексей Васильевич Муравьев

Издается в авторской редакции

Технический редактор выпускных сведений С.А. Сосновцева

Макет О.В. Первушиной

Подписано в печать 11. 03. 2021 г.

Формат 60х90/16

Объем 12,5; усл. печ. л. 8,7

Тираж 500 экз. Заказ № 69

Издано в ФГБОУ ВО «Ярославский государственный
педагогический университет

им. К. Д. Ушинского» (РИО ЯГПУ)

150000, г. Ярославль, Республиканская ул., 108/1

Типография ЯГПУ

150000, г. Ярославль, Которосльная наб., 44

Телефоны: (4852) 72-64-05, 32-98-69