УДК 57.032, 57.033

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 газотрансмиттеров (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-

© Муравьев А.В., Тихомирова И.А., Билецкая Е.С., Зинчук В.В., Остроумов Р.С. , Михайлов П.В. , Петроченко Е.П., 2021

Репозиторий ГрГМУ

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

Репозиторий ГрГМУ

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 H_2S) [3, 4].

Целью данного исследования было изучение роли газотрансмиттеров (NO и H_2S) 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-

Репозиторий ГрГМУ

эргометре Monark 928 *E* с помощью метабограф «Спироланм» (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 H_2S – 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 величи-

Репозиторий ГрГМУ

ны (M) 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±1,74 млO_2/кг/мин. Тогда как у лиц группы 2 эта характеристика была равной 53,1±2,4 млO_2/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.

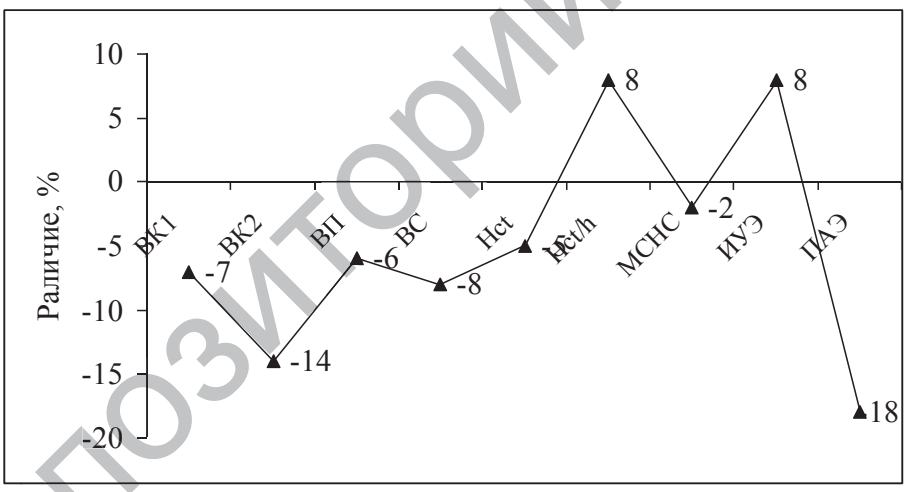


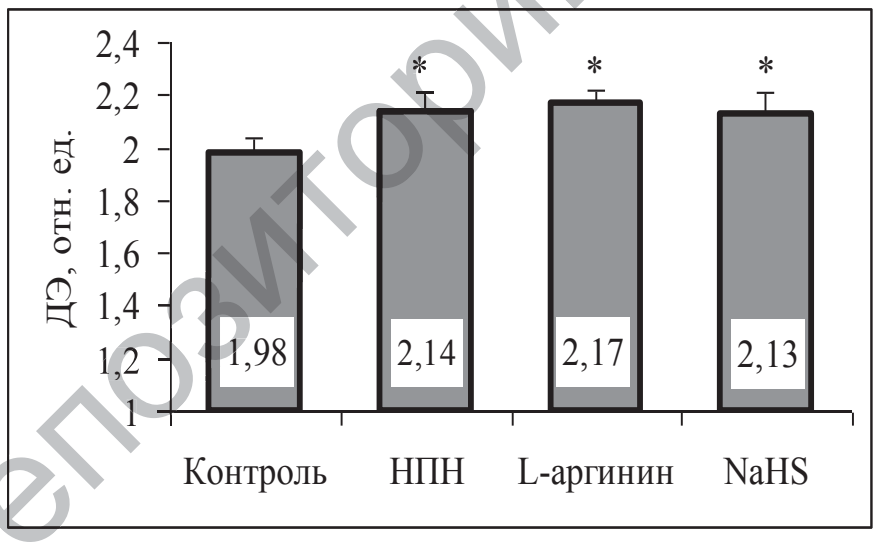
Рис. 1. Гемореологические профили лиц с умеренным уровнем МПК (нулевая линия, группа 1) и испытуемых группы 2 (различия по сравнению с данными группы 1 в процентах).

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

Репозиторий ГрГМУ

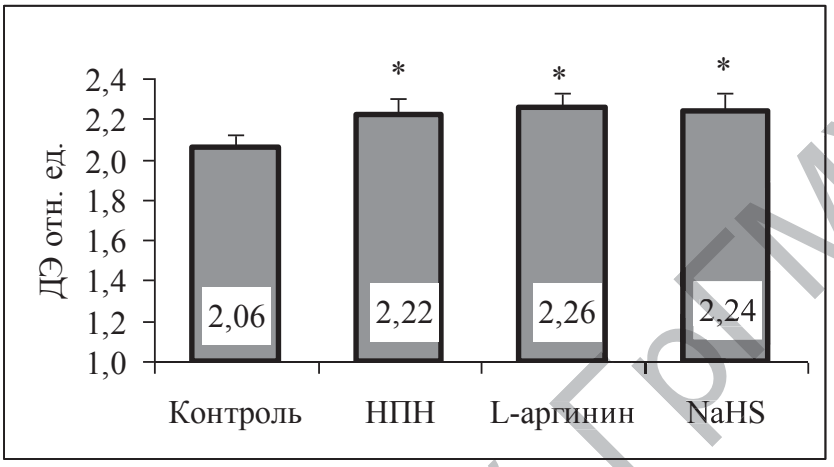
агрегации эритроцитов; ИУЭ – индекс деформация эритроцитов; Hct/η – индекс эффективности транспорта кислорода кровью.

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. 3*а* и *б*; $p < 0,01$).



а

Репозиторий ГрГМУ



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% ($p < 0,01$).

Заключение

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-

Репозиторий ГрГМУ

сить 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 heamorheology. 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 (H_2S 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.

Репозиторий ГрГМУ