

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

ЭРИТРОПОЭТИН И КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ

В. В. Зинчук, С. В. Глуткин, Е. В. Шульга¹

Анализируются собственные и литературные данные об эффектах и механизмах действия эритропоэтина. Действие этого фактора на кислородтранспортную функцию крови проявляется не только в непосредственном влиянии на концентрацию гемоглобина и, соответственно, в увеличении кислородной емкости, но и через модуляторы сродства гемоглобина к кислороду, в частности, посредством эффекта окиси азота на гемоглобин.

Ключевые слова: эритропоэтин, кислород, кровь

Одним из триггерных механизмов ответа клеток на гипоксическое воздействие является геном-опосредованное инициирование продукции эритропоэтина (ЭПО). ЭПО является гормоном, участвующим в регуляции эритропоэза. Он представляет собой гликопротеин (количество углеводов составляет 40 %), включающий цепь из 165 аминокислот и карбоангидратной части, состоящей из одной О- и трёх N-связанных олигосахаридов, на концах которых располагаются сиаловые кислоты [23]. Молекула данного гликопротеина имеет массу 32000 – 40000 Дальтон. Его уровень в плазме здоровых людей изменяется в пределах 0,01 – 0,03 МЕ/мкл, а период полураспада составляет 6 – 8 ч [11]. Основным местом его образования у взрослых являются почки (интерстициальные фибробласты в корковом слое), у плода — печень, однако во взрослом организме некоторый относительно невысокий уровень его экспрессии наблюдается и в других органах (селезёнка, органы репродуктивной системы, лёгкие, мозг, печень) [23]. Эта субстанция обеспечивает пролиферацию, дифференциацию и угнетение апоптоза в чувствительных к нему клетках кроветворной ткани [1].

Экспрессия гена ЭПО усиливается при снижении концентрации кислорода [40]. Тканевая гипоксия выступает в качестве стимула синтеза ЭПО. Ответом клетки на гипоксию является формирование комплекса белковых молекул, получившего название “гипоксией индуцируемый фактор-1” (ГИФ-1), который является белком с молекулярной массой 122000 – 132000 Дальтон, и связывающегося с ДНК [2]. Первичный стимул образования ЭПО — гипоксия ткани, активирующая ГИФ-1. Последний вызывает транскрипцию соответствующего гена. Увеличение эритропоэтической мРНК достигает максимума через 4 – 8 ч

после начала гипоксии [18]. ГИФ-1 — гетеродимер, состоящий из α - и β -субъединиц. β -Субъединица относится к конститутивным ядерным белкам, а α — к индуцибельным по отношению к гипоксии [24]. Среди изоформ данного фактора выделяют -1 α , -2 α , -3 α . Первые две — наиболее структурно и функционально схожие изоформы. Каждый из данных белков модулируется гипоксией, димеризуется с ГИФ-1 β , обеспечивает гипоксически связанную транскрипционную активность [22]. В то же время ГИФ-3 α выступает в качестве ингибитора. Он регулирует транскрипционный ответ на недостаток O₂ через обратную связь [30]. На сниженный уровень O₂ реагируют специфические сенсорные клетки почек, что сопровождается повышенным образованием в клубочковых клетках простагландинов, которые играют важную роль в стимуляции продукции ЭПО [40]. У пожилых лиц с хронической сердечной недостаточностью (60 – 85 лет) организм сохраняет способность реагировать на гипоксию интенсивной продукцией эритропоэтина [9].

ЭПО играет важную роль в формировании механизмов транспорта O₂ кровью: образования большого количества красных клеток крови, согласования механизмов легочной вентиляции и сердечного выброса, барьеров O₂ диффузии, контроля местной тканевой микроциркуляции и изменения сродства гемоглобина к кислороду (СГК) [50]. Благодаря ЭПО формируется адекватный уровень различных внутриклеточных и системных ответов на гипоксическое воздействие, в частности, со стороны механизмов транспорта кислорода кровью. Защита организма от повреждающего действия гипоксии связана с активацией ГИФ-1 как в тканях, ответственных за адаптацию организма к гипоксии путем включения генерализованных приспособительных ответов в кардиомиоцитах, нервных клетках, так и непосредственно испытывающих действие гипоксии [1]. Это предполагает интерес к изучению природы эритропоэтической активности при гипоксии, реализуемой через механизмы транспорта O₂ кровью. Данная субстанция является фактором, регу-

¹ Кафедра нормальной физиологии (зав. — О. А. Балбатун) Гродненского государственного медицинского университета, Беларусь, 230009, Гродно, ул. Горького, 80.
e-mail: zvvv@tut.by

лирующим образование молодых предшественников красных клеток крови, способствует образованию эритроцитов [2]. В результате увеличения концентрации гемоглобина и, соответственно, повышения кислородной ёмкости крови, ЭПО вносит вклад в формирование её кислородтранспортной функции (КТФ) [49]. Однако его влияние на механизмы транспорта O_2 крови может реализоваться и через модулирование SGK.

Определяющее значение в формировании КТФ крови принадлежит гемоглобину. В условиях гипоксии доставка O_2 в ткани осуществляется путем изменения тонких механизмов регуляции SGK, даже малые сдвиги которого способны максимально увеличить артериовенозную разницу по O_2 и оптимизировать его транспорт в ткани [7, 8]. Сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) вправо при снижении pO_2 в крови можно расценивать как попытку организма компенсировать кислородную недостаточность, но в условиях окислительного стресса, когда нарушена утилизация кислорода тканями, ее смещение влево может иметь благоприятное значение, обладая антиоксидантным эффектом [3, 6].

Введение ЭПО (200 Ед/кг) недоношенным младенцам приводит к смещению КДО вправо [38]. Известно также, что ЭПО может сдвигать КДО вправо посредством изменения концентрации 2,3-дифосфоглицерата [31]. Так, ЭПО приводит к увеличению содержания 2,3-дифосфоглицерата на 13 % и тем самым способствует снижению SGK, что усиливает доставку O_2 в ткани у больных, находящихся на гемодиализе [21]. Введение ЭПО человеку приводит к образованию новых молодых эритроцитов, которые отличаются по функциональным возможностям от более зрелых красных клеток крови [36]. В отличие от зрелых эритроцитов, молодые — крупнее в объеме, имеют более высокую плотность мембранных белков-переносчиков и активность внутриклеточных ферментов, характеризуются снижением SGK [33]. В сравнении с нормальными эритроцитами у молодых красных клеток крови КДО сдвинута вправо, что усиливает поступление O_2 в ткани, особенно в условиях введения в организм эритропоэтина [39]. Предполагают, что снижение SGK при полицитемии и тромбоцитемии связано с уменьшением образования ЭПО [25]. Авторы [44] исследовали изменение уровня ЭПО при различных состояниях кислородного насыщения организма в условиях анемии и без неё: при гипоксии значение кислородного насыщения увеличивается, при гипероксемии — снижается. Во время нормоксемии наблюдается увеличение данного параметра при анемии и стабильность его уровня при её отсутствии. Во время адаптации к высокогорью и у больных с метаболическим синдромом, и у лиц контрольной группы наблюдается увеличение ЭПО и смещение КДО вправо [37]. Показано, что нахождение человека на высоте 4350 метров над уровнем моря приводит сначала к росту концентрации ЭПО (через 18 и 42 ч нахождения на высоте), а затем к его снижению (через 64 и 88 ч) при соответствующем изменении таких параметров, как насыщение артери-

альной крови кислородом, pH, pO_2 венозной крови [27]. Введение ЭПО здоровым лицам способствует увеличению потребления ими O_2 как через повышение системных механизмов его доставки (увеличение легочного потребления O_2 после введения ЭПО до $4254,5 \pm 178,4$ с $3950 \pm 160,7$ мл/мин), так и через повышение его доставки к мышцам нижних конечностей (увеличение до $2079,8 \pm 120,7$ с 1777 ± 102 мл/мин) [29]. Известен эффект ЭПО по увеличению количества эритроцитов и концентрации гемоглобина. В то же время, ЭПО обладает широким спектром плеiotропного действия: влияет на кислородсвязывающие свойства крови [29, 49], сердечно-сосудистую, нервную и другие системы организма [32].

Смещение КДО вправо после введения ЭПО может быть обусловлено увеличением концентрации 2,3-дифосфоглицерата [13]. Известно, что умеренная высотная гипоксия стимулирует эритропоэз, улучшает транспорт O_2 в ткани, в частности, за счет снижения SGK [37]. В связи с изложенным представляется обоснованным использование ЭПО для модуляции кислородсвязывающих свойств крови и коррекции гипоксии, возникающей при действии различных факторов.

Выявлено влияние ЭПО на сердечно-сосудистую систему [47]. Так, его применение при хронической почечной недостаточности приводит к увеличению артериального давления от нескольких недель до нескольких месяцев [35]. ЭПО увеличивает концентрацию норадреналина *in vitro* и *in vivo* [20], повышает содержание эндотелина-1, простагландина $F2\alpha$ и тромбосана B_2 [14], уровень тромбомодулина, фактора Виллебранда и количество тромбоцитов [42]. *In vitro* ЭПО стимулирует пролиферацию эндотелиальных клеток [17], а также оказывает сосудосуживающее действие путем увеличения образования циклического гуанозинмонофосфата [46]. Его введение *in vivo* защищает миокард и поддерживает сердечную деятельность при ишемии/реперфузии, что связано с ингибированием апоптоза [28]. Показано, что введение ЭПО крысам непосредственно после инфаркта миокарда способствует снижению размера его зоны (на 23 – 30 %) и улучшению параметров гемодинамики [45]. Увеличение ЭПО в плазме крови повышает устойчивость миокарда к гипоксии, что оптимизирует работу системы транспорта O_2 , направленную на улучшение снабжения тканей O_2 еще до увеличения кислородной емкости крови, вызванной активацией эритропоэза [26].

В наших экспериментах использовался препарат эпокрин (рекомбинантный человеческий ЭПО- α , ГУП “Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов”, Санкт-Петербург), вводимый на протяжении 10 дней крысам (внутрибрюшинно, в дозе 100 Ед/кг однократно ежедневно), которые затем подвергались холодовому воздействию и последующему отогреванию. Выявлено, что ЭПО улучшает адаптивные процессы в условиях влияния низкой температуры, реализуя свое действие на меха-

низмы транспорта O_2 как через увеличение количества гемоглобина, так и через снижение СГК в экспериментальных группах (гипотермия/отогревание). Вклад ЭПО в механизмы сдвига КДО вправо имеет NO-зависимую природу, на что указывает увеличение содержания нитрат/нитритов у животных, получивших ЭПО. Наибольшее повышение их содержания отмечается в группе ЭПО + гипотермия — на 47 % в сравнении с группой гипотермия/отогревание [5].

В других наших исследованиях оценивался эффект ЭПО на КТФ крови в условиях действия липополисахарида (ЛПС). Показано, что за 30 мин до внутривенного введения ЛПС в дозе 500 мкг/кг однократная инъекция эпофита ("Intas Pharmaceuticals LTD") внутривенно в дозе 1000 Ед/кг приводит к уменьшению развития метаболического ацидоза, повышая рН на 0,083 ед. ($p < 0,05$), а также увеличивая значения HCO_3^- на 19,8 % ($p < 0,05$), TCO_2 на 18,8 % ($p < 0,05$), ABE на 32,2 % ($p < 0,05$), SBE на 29,2 % ($p < 0,05$), SBC на 18,7 % ($p < 0,05$) по отношению к группе животных, получавших только ЛПС [8]. Инъекция ЭПО перед ЛПС улучшает показатели КТФ крови, увеличивая значения CvO_2 на 30,6 % ($p < 0,05$), SO_2 на 21,6 % ($p < 0,05$) и pO_2 на 22,4 % ($p < 0,05$), однако показатель гемоглобина достоверно не изменяется. После введения ЭПО параметр $r50$ при реальных значениях рН, pCO_2 и температуры снижается на 7,2 % ($p < 0,05$), что отражает повышение СГК и, соответственно, отклонение КДО при реальных условиях циркуляции влево, в то время как показатель $r50$ при стандартных значениях рН, pCO_2 и температуры повышается на 5,6 % ($p < 0,05$) в сравнении с группой животных, получавших только ЛПС. Введение ЭПО и ЛПС приводит к снижению содержания нитрат/нитритов на 37,6 % ($p < 0,05$). Как видим, данные изменения способствуют улучшению кислородсвязывающих свойств крови, оптимизации оксигенации тканей еще до активации эритропоэза и последующего увеличения кислородной емкости крови.

Эффект ЭПО на механизмы транспорта кислорода кровью, несомненно, имеет NO-зависимую природу [34, 51, 52]. На фоне улучшения оксигенации тканей происходит увеличение экспрессии эндотелиальной изоформы NO-синтазы, а введение в этих условиях L-NAME приводит к устранению данного эффекта [19]. ЭПО увеличивает экспрессию эндотелиальной изоформы NO-синтазы в кардиомиоцитах как *in vitro*, так *in vivo* [15]. Добавление ЭПО в культуру эндотелиальных клеток приводит к увеличению образования NO [10]. Кроме того, он может снижать активность NO-синтазы (эндотелиальной изоформы) и образование NO при его инкубации в течение суток с эндотелиальными клетками коронарных артерий [48]. При ишемическом повреждении головного мозга ЭПО ингибирует повышенное образование NO в гиппокампе [16]. Тканевое pO_2 через NO и его производные способно регулировать количество и активность ГИФ-1 α . В условиях гипоксии происходит уменьшение стабилизации ГИФ-1 α и его транскрипционной активности при

действии NO [12]. NO, ингибируя вызываемые гипоксией изменения экспрессии генов, может также имитировать O_2 как предполагаемый геновый датчик. Обеспечение процессов регуляции ангиогенеза, клеточной адгезии, образования ЭПО с последующим выбросом молодых эритроцитов в сосудистое русло с иными кислородсвязывающими свойствами гемоглобина происходит путем NO-зависимой регуляции сигнальной трансдукции (активации) ГИФ-1 α , осуществляемой через образование пероксинитрита, который индуцирует освобождение 2-оксоглутарата из митохондрий, регулируя связывание гидроксिलированных пролинов α -субъединиц ГИФ-1, убиквитинизацию и деградацию этого протеина [43].

Как видим, полученные данные отражают эффект ЭПО на КТФ крови. Очевидно, существует некий дополнительный механизм, обеспечивающий улучшение функционирования транспорта кислорода кровью, учитывая небольшой срок от введения данного вещества (12 часов), связанный с функционированием L-аргинин-NO системы, исходя из динамики изменения уровня нитрат/нитритов в плазме крови.

Формирование кислородсвязывающих свойств крови осуществляется через действие различных модуляторов (рН, 2,3-дифосфоглицерат и др.), которые обеспечивают адаптивный характер их изменений. ЭПО может влиять на КТФ крови не только через увеличение гемоглобина, фракции молодых эритроцитов, но и через модуляторы СГК, в частности, эффект NO на гемоглобин. Увеличение концентрации ЭПО в плазме крови повышает устойчивость ткани к гипоксии и поддерживает тонус сосудов, что оптимизирует работу системы транспорта кислорода, направленную на улучшение оксигенации тканей еще до увеличения кислородной емкости крови, вызванной активацией эритропоэза [1]. Кроме того, существует дополнительный механизм, обеспечивающий улучшение функционирования системы транспорта кислорода кровью. Коррекция КТФ путем введения ЭПО уменьшает избыточную продукцию NO за счет снижения активации индуцибельной изоформы NO-синтазы, что уменьшает образование пероксинитрита и его негативное действие, а также может влиять на СГК через образование различных NO-соединений с гемоглобином (нитрозогемоглобин, нитрозилгемоглобин), регуляцию сосудистого тонуса, что имеет важное значение для процессов газообмена [4, 41].

Таким образом, действие ЭПО на КТФ крови проявляется не только в непосредственном влиянии на концентрацию гемоглобина, соответственно, увеличение кислородной емкости, но и через формирование кислородсвязывающих свойств крови, при состояниях индуцированных действием низкой температуры и введением ЛПС. Очевидно, улучшение показателей КТФ крови, повышение СГК реализуется через уменьшение дисбаланса L-аргинин-NO системы и образования NO.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ю. М. Захаров, *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*, **93**(6), 592 – 607 (2007).
2. Ю. М. Захаров, *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*, **91**(9), 993 – 1004 (2005).
3. В. В. Зинчук, *Роль кислородсвязующих свойств крови в формировании прооксидантно-антиоксидантного состояния организма при гипертермических состояниях различного генеза*, ГрГМУ, Гродно (2005).
4. В. В. Зинчук, *Усп. физиол. наук*, **34**(2), 33 – 45 (2003).
5. В. В. Зинчук, С. В. Глуткин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **73**(7), 28 – 31 (2010).
6. В. В. Зинчук, М. В. Борисюк, *Усп. физиол. наук*, **30**(3), 38 – 48 (1999).
7. В. В. Зинчук, М. А. Добродей, М. А. Лис, *Физиология человека*, **34**(2), 136 – 138 (2008).
8. В. В. Зинчук, Е. В. Шульга, И. Э. Гуляй, *Рос. физиол. журнал им. И. М. Сеченова*, **96**(1), 43 – 49 (2010).
9. Н. А. Макарова, Ю. М. Захаров, *Рос. физиол. журнал им. И. М. Сеченова*, **95**(4), 123 – 128 (2009).
10. D. Banerjee, M. Rodriguez, M. Nag, J. W. Adamson, *Kidney Int.*, **57**(5), 1895 – 1904 (2000).
11. C. Bauer, *J. Perinat. Med.*, **23**(1 – 2), 77 – 81 (1995).
12. U. Berchner-Pfannschmidt, H. Yamac, B. Trinidad, J. Fandrey, *J. Biol. Chem.*, **282**(3), 1788 – 1796 (2007).
13. G. Birgegard, B. Sandhagen, *Scand J. Clin. Lab. Invest.*, **61**(5), 337 – 340 (2001).
14. S. M. Bode-Böger, R. H. Boger, M. Kuhn, et al., *Kidney Int.*, **50**(4), 1255 – 1261 (1996).
15. D. Burger, D. M. Lei, N. Geoghegan-Morphet, et al., *Cardiovasc Res.*, **72**(1), 51 – 59 (2006).
16. G. Calapai, M. C. Marciano, F. Corica, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **401**(3), 349 – 356 (2000).
17. R. G. Carlini, A. A. Reyes, M. Rothstein, *Kidney Int.*, **47**(3), 740 – 745 (1995).
18. Z. Z. Chong, J. Q. Kang, K. Maiese, J. Cereb, *Blood Flow Metab.*, **22**(5), 503 – 514 (2002).
19. C. Contaldo, A. Elsherbiny, N. Lindenblatt, et al., *Shock*, **31**(6), 599 – 606 (2009).
20. M. F. Hand, W. G. Haynes, H. A. Johnstone, et al., *Kidney Int.*, **48**(3), 806 – 813 (1995).
21. J. H. Horina, G. Schwaberger, H. Brussee, et al., *Nephrol. Dial. Transplant.*, **8**(11), 1219 – 1222 (1993).
22. C. J. Hu, L. Y. Wang, L. A. Chodosh, et al., *Mol. Cell. Biol.*, **23**(24), 9361 – 9374 (2003).
23. W. Jelkmann, *Intern. Med.*, **43**(8), 649 – 659 (2004).
24. B.-H. Jiang, E. Rue, G. L. Wang, et al., *J. Biol. Chem.*, **271**(30), 17771 – 17778 (1996).
25. P. Johansson, G. Brudin, B. Nilsson, B. Andreasson, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **64**(1), 71 – 75 (2004).
26. Q. Ke, M. Costa, *Mol. Pharmacol.*, **70**(5), 1469 – 1480 (2006).
27. T. Klausen, H. Christensen, J. M. Hansen, et al., *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.*, **74**(5), 475 – 480 (1996).
28. E. Lipsic, P. van der Meer, R. H. Henning, et al., *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **44**(4), 473 – 479 (2004).
29. C. Lundby, P. Robach, R. Boushel, et al., *J. Appl. Physiol.*, **105**(2), 581 – 587 (2008).
30. Y. Makino, R. Cao, K. Svensson, et al., *Nature.*, **414**(6863), 550 – 554 (2001).
31. J. Milbrink, G. Birgegard, A. Danersund, et al., *Can. J. Anaesth.*, **44**(12), 1315 – 1318 (1997).
32. O. Pagonopoulou, A. Efthimiadou, M. Lambropoulou, et al., *In Vivo*, **22**(5), 587 – 591 (2008).
33. S. Piomelli, C. Seaman, *Am. J. Hematol.*, **42**(1), 46 – 52 (1993).
34. T. P. Pronko, V. V. Zinchuk, *Clin. Physiol. Funct. Imaging*, **29**(3), 170 – 176 (2009).
35. A. E. Raine, S. D. Roger, *Am. J. Kidney Dis.*, **18**(4), 76 – 83 (1991).
36. R. L. Rentsch, R. Damsgaard, C. Lundby, C. Juel, *J. Appl. Physiol.*, **101**(1), 164 – 168 (2006).
37. W. Schobersberger, S. Greie, E. Humpeler, et al., *High Alt. Med. Biol.*, **6**(2), 167 – 177 (2005).
38. V. Soubasi, G. Kremenopoulos, C. Tsantali, et al., *Biol. Neonate*, **78**(4), 281 – 287 (2000).
39. O. Sowade J., Gross, B. Sowade, et al., *J. Lab. Clin. Med.*, **129**(1), 97 – 105 (1997).
40. J. Sraer, J. D. Sraer, D. Chansel, et al., *Mol. Cell Endocrinol.*, **16**(1), 29 – 37 (1979).
41. T. L. Stepuro, V. V. Zinchuk, *Journal Physiol. Pharmacol.*, **57**(1), 29 – 38 (2006).
42. P. J. Stohlawetz, L. Dzirlo, N. Hergovich, et al., *Blood*, **95**(9), 2983 – 2989 (2000).
43. V. V. Sumbayev, I. M. Yasinska, *Scand. J. Immunol.*, **65**(5), 399 – 406 (2007).
44. H. Tsangaris, J. Pneumatikos, J. Sdranis, et al., *Monaldi Arch. Chest Dis.*, **54**(2), 120 – 125 (1999).
45. P. van der Meer, E. Lipsic, R. H. Henning, et al., *J. Am. Coll. Cardiol.*, **46**(1), 125 – 133 (2005).
46. N. D. Vaziri, X. J. Zhou, J. Smith, et al., *Am. J. Physiol.*, **269**(6), 838 – 845 (1995).
47. N. D. Vaziri, A. Ateshkadi, *Nephrol. Dial. Transplant.*, **14**(2), 46 – 49 (1999).
48. X. Q. Wang, N. D. Vaziri, *Hypertension*, **33**(3), 894 – 899 (1999).
49. D. P. Wilkerson, J. Rittweger, N. J. Berger, et al., *J. Physiol.*, **568**(2), 639 – 652 (2005).
50. R. M. Winslow, *Respir. Physiol. Neurobiol.*, **158**(2 – 3), 121 – 127 (2007).
51. V. Zinchuk, *Respiration*, **66**(5), 448 – 454 (1999).
52. V. V. Zinchuk, L. V. Dorokhina, *Nitric Oxide*, **6**(1), 29 – 34 (2002).

Поступила 03.02.11

ERYTHROPOIETIN AND BLOOD OXYGEN TRANSPORT: NEW SIDES OF WELL-KNOWN PROBLEM

V. V. Zinchuk*, S. V. Glutkin, and E. V. Shul'ga

Grodno State Medical University, Ministry of Public Health of the Republic of Belarus, ul Gor'kogo 80, Grodno,

230009 Belarus;

*e-mail: zvvv@tut.by

Original results and literature data on the erythropoietin effects and mechanisms of action are analyzed. The action of this substance on blood oxygen transport is not only manifested by direct change in hemoglobin concentration and, correspondingly, by increased oxygen capacity, but is also mediated by modulators of hemoglobin affinity to oxygen, in particular, via nitric oxide effect on hemoglobin.

Key words: Erythropoietin, oxygen, blood