

**Кислотная резистентность эритроцитов человека  
при гипоксии и изменении рН крови**

Ж.Е. Иванкова<sup>1</sup> А.Ю. Людина<sup>2</sup>,

<sup>1</sup> Сыктывкарский государственный университет имени Питирима Сорокина,

<sup>2</sup> Институт физиологии Коми научного центра УрО РАН

Состояние кислородтранспортной функции крови, определяемое исходными свойствами гемоглобина и действием различных клеточных эффекторов, позволяет обеспечить адаптацию организма к различным гипоксическим условиям [1]. Известно, что при гипоксии, хеморецепторы опосредованно влияют на симпатическую активность: увеличивает частоту сердечных сокращений, минутный объем сердца, периферическое сопротивление и системное артериальное давление [2]. Гипоксия вызывает множество изменений, в том числе, увеличение гематокрита, концентрации эритропоэтина, может оказывать влияние на эритропоэз [3]. Особую биологическую функцию выполняет мембрана эритроцитов (Эр) как универсальная модель, отражающая состояние мембран целостного организма, она является первой мишенью при действии на организм вредных факторов внутренней и внешней среды, её изменение может служить ранним сигналом нарушения гомеостаза и развития патологического процесса [4]. Целью данной работы является оценка устойчивости Эр человека при нормобарической гипоксии к гемолитическому раствору.

**Материалы и методы исследования.**

Материалом исследований служила венозная кровь мужчин-доноров (n=36), взятая в ГУ «Республиканская станция переливания крови» и кровь добровольцев (n=20), забор крови у которых осуществляли в Институте физиологии КНЦ УрО РАН. Гипоксическое воздействие моделировали вдыханием газовой смеси с 9%-ным содержанием O<sub>2</sub>. Забор крови производили в покое (фон), на 5, 10 и 35-й мин и в период восстановления на 5 и 15 мин. Кислотную резистентность эритроцитов (КРЭ) определяли по методу Гительсона-Терскова в модификации. Измеряли рН-крови, сначала до добавления молочной кислоты, затем после ее добавления (0,05 мл; С молочной кислоты = 0,4%), до и после добавления NaOH (0,05 мл; С (NaOH) = 0,1%). Достоверность различий оценивали по W-критерию Вилкоксона. Для расчетов и графической обработки данных использовали Microsoft Office 2010.

**Результаты исследования и обсуждение**

Показано, что у добровольцев КРЭ фоновой пробы ниже, чем у доноров. Эритрограмма добровольцев имеет одну вершину, что указывает на относительную однородность популяции Эр, соответствующей нормобластическому типу кроветворения [5].

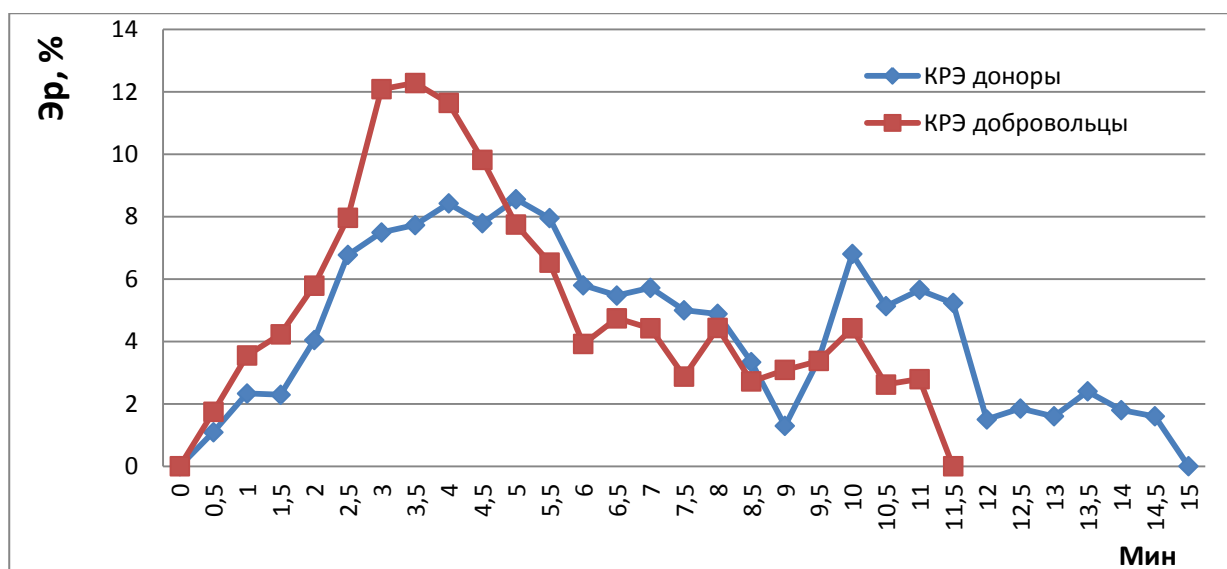


Рисунок 1. КРЭ (динамика разрушения) доноров и участников эксперимента в контроле

Примечание: по оси ординат - % разрушенных Эр, по оси абсцисс – время продолжительности гемолиза мин

В наших исследованиях рН крови составило в среднем  $7,47 \pm 0,23$  в контрольных пробах, после внесения молочной кислоты в кровь –  $6,83 \pm 0,22$ , после добавления щелочи –  $7,91 \pm 0,15$ , что почти соответствует данным литературы, т. к. известно, в норме кровь имеет слабощелочную реакцию:  $\text{pH} = 7,35-7,45$ , причем величина рН всегда поддерживается в узких границах, так как только в этих условиях возможна работа большинства ферментов. Для каждого фермента существует свой оптимум рН (для большинства он составляет 7,3 – 7,4), при котором активность ферментов максимальна. Даже незначительные колебания рН в ту или иную сторону ведут к снижению активности ферментов и замедлению биохимических процессов.

После внесения в кровь молочной кислоты или NaOH кривая сдвинута влево, в сторону уменьшения КРЭ (рис.2). Время завершения гемолиза различно: после внесения в кровь молочной кислоты на полный гемолиз уходит  $9,42 \pm 1,25$  минут, после внесения щелочи -  $8,19 \pm 0,81$  минут, в контроле -  $9,17 \pm 0,95$  минут. Время гемолиза, соответствующее максимуму и характеризующее наиболее вероятную стойкость Эр, ширина интервала гемолиза и асимметричность при защелачивании меньше, чем в контроле ( $p < 0,05$ ).

В условиях внутриклеточной недостаточности кислорода клетка поддерживает собственные энергетические потребности за счет активизации процессов анаэробного гликолиза. В результате происходят истощение внутренних энергетических резервов, деструкция клеточных мембран и разрушение клеток. Преобладание анаэробных путей воспроизводства энергии служит ведущим механизмом развития гипоксических и ишемических повреждений органов и тканей [6].

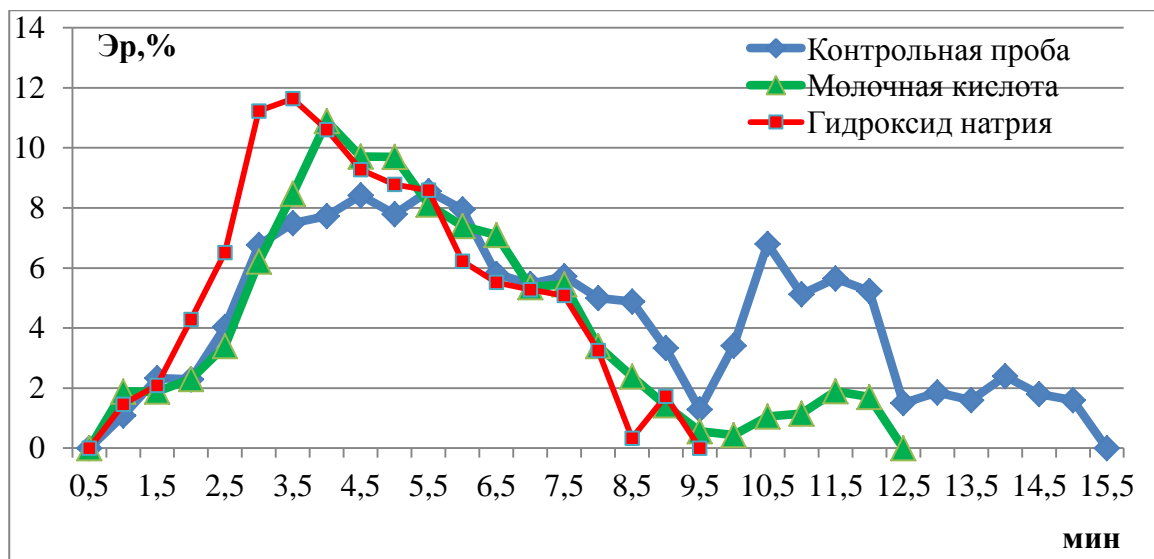


Рисунок 2. КРЭ (динамика разрушения) доноров до и после внесения в кровь молочной кислоты и гидроксида натрия

Показано, что в норме (фон) время, которое требуется на полный гемолиз, около 12 минут (рис.3), после гипоксического воздействия времени требуется меньше –  $7,65 \pm 1,52$ ,  $7,32 \pm 1,39$ ,  $7,61 \pm 1,3$ ,  $7,8 \pm 1,90$  после 5, 10, 20 и 25 минут соответственно, максимальный процент гемолизированных Эр растет с увеличением кислородного голодания, но статистически достоверной разницы нет.

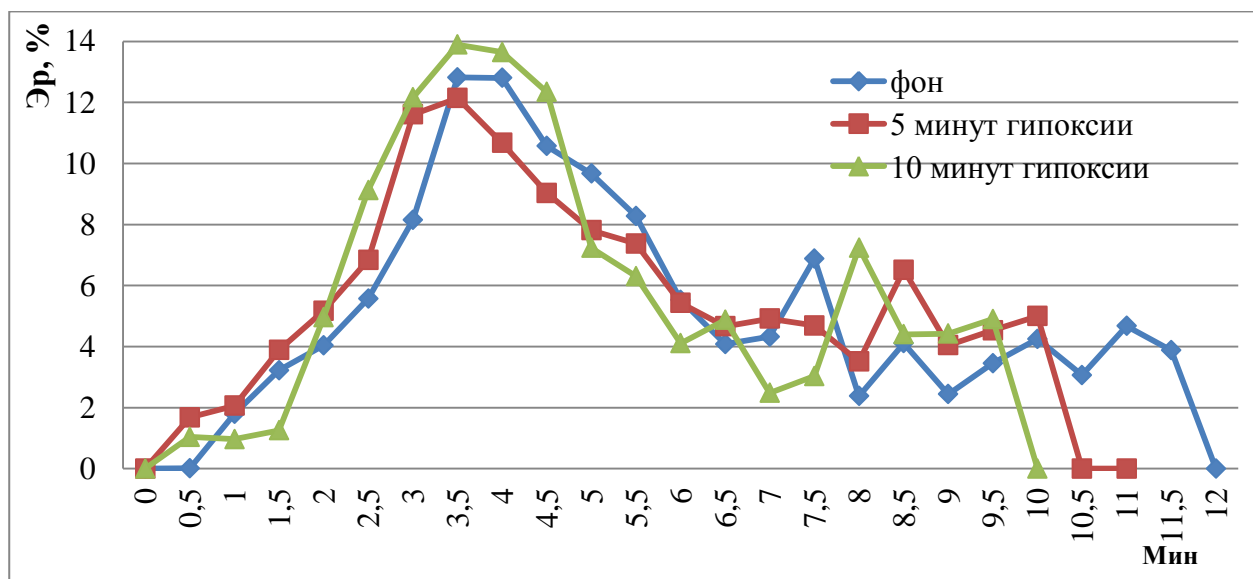


Рисунок 3. КРЭ человека (динамика разрушения) во времени при фоне и различных по времени воздействиях гипоксии

После гипоксической нагрузки организм приходит в норму (рис.4), но пониженная резистентность Эр сохраняется, так кривая фона правее, что показывает более высокую устойчивость Эр. Высказано мнение, что снижение устойчивости Эр обусловлено денатурацией периферического белка спектрина. Изменение емкостного сопротивления обусловлено увеличением проницаемости для ионов за счет тепловой денатурации белка

анионообменника [7]. Кроме того известно, то острая нормобрическая гипоксия провоцирует развитие окислительного стресса клеток мозга [8]

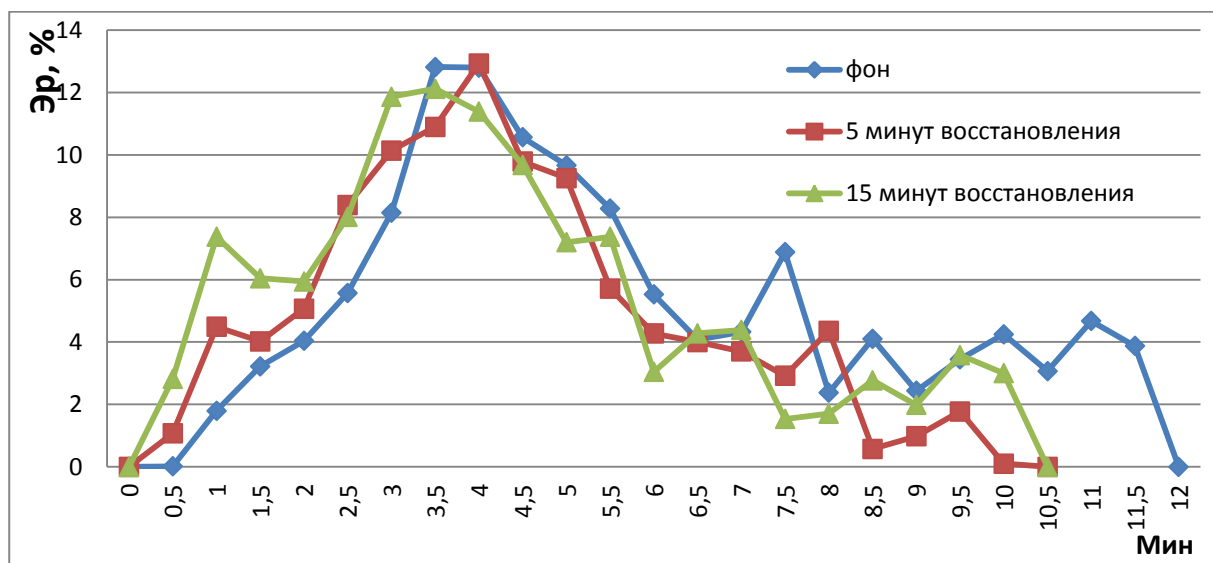


Рисунок 4. КРЭ человека (динамика разрушения) во времени при фоне и различном времени восстановления после гипоксического воздействия

Показано, что при гипоксическом воздействии КРЭ почти такая же, как при защелачивании крови (рис.5.).

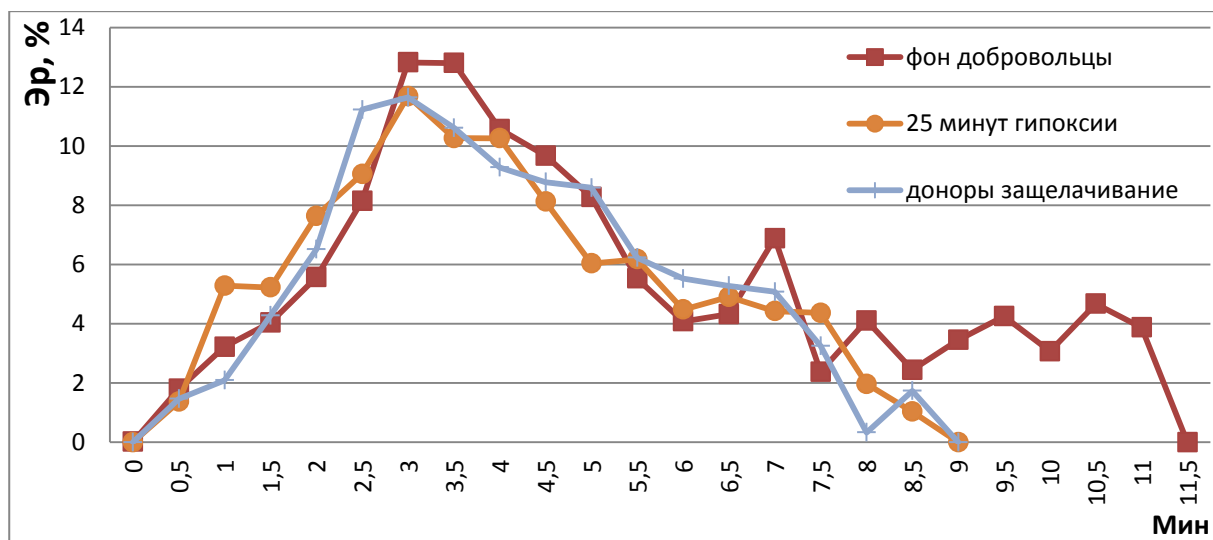


Рисунок 5. КРЭ (динамика разрушения) доноров при защелачивании и добровольцев после 25 минут гипоксического воздействия

Известно, что гипоксическая нагрузка сдвигает рН крови в щелочную среду как показали в работе Бойко Е. Р. и др. [9]. Кроме того, было показано, что использование в тренировках упражнений высокой интенсивности (гипоксическое состояние), приводит к развитию респираторного алкалоза. рН крови увеличивается до 7,57-7,65, концентрация лактата при этом уменьшается с 12,3 до 10,2 ммоль/л. Увеличение рН крови с 7,35 до 7,46 показано у бегунов на длинные дистанции, после 12, 24 и 48 часов восстановления [10].

Таким образом, после гипоксии кривая гемолиза эритроцитов сдвинута влево, по сравнению с фоном, что говорит о снижении кислотной резистентности клеток. Гипоксическое воздействие на организм человека сдвигает рН крови в щелочную среду, так как это увеличивает сродство гемоглобина к кислороду для того.

### Список литература

1. Зинчук В.В. Деформируемость эритроцитов: физиологические аспекты // Успехи физиолог. наук. - 2001. - Т.32. - №3. - С. 66 - 78.
2. Raghuraman G, Prabhakar N. R., Kumar G. K. Differential regulation of tyrosine hydroxylase by continuous and intermittent hypoxia // Adv. Exp. Med. Biol. - 2012. - Vol. 758. - P. 381-385.
3. Mosqueira M et al. Expression Profiling Reveals Novel Hypoxic Biomarkers in Peripheral Blood of Adult Mice Exposed to Chronic Hypoxia // Novel Hypoxic Biomarkers in Peripheral Blood. - 2012. - V.7.- P. 5-10.
4. Кашулина А. П. Эритроциты периферической крови как источник информации о состоянии организма в норме и при патологии // Мед. и качество жизни. - 2011. - №2. - С. 11–14.
5. Рабаданова А. И., Шихмагомедова Р. М., Гасасаева Р. М., Бахмудова А. А. Количественные и качественные изменения эритроцитов в крови студентов при действии стрессовых факторов // Академия естествознания. – 2001. - С.18.
6. Скрыпник И. Н., Вахненко А. В. Роль гипоксии в развитии заболеваний органов пищеварения и обоснование применения антигипоксантов в гастроэнтерологии // Сучасна гастроентерологія. – 2010. – №. 4. – С. 20.
7. Ivanov I. T., Karabaliev P. Zagorchev V. Temperature and frequency dependences of the resistance and capacitance of erythrocyte membranes as a tool for detecting anemia of the type membranopathy // Trakia Journal of Sciences. - 2010. - Vol. 8. - P. 43-48.
8. Coimbra-Costa D., Alva N., Duran M., Carbonell T., Rama R. Oxidative stress and apoptosis after acute respiratory hypoxia and reoxygenation in rat brain // Redox Biology. – 2017.-V.12. –P. 216–225
9. Бойко Е. Р. и др. Показатели гликемии при выраженной экзогенной острой нормобарической гипоксии у человека в покое // Рос.физиол. журнал. – 2010. - Том 36. - № 3. - С. 110-116.
10. Kłapcin´ska B., Was´kiewicz Z., Chrapusta S. J., Sadowska-Krepa E., Czuba M., Langfort J. Metabolic responses to a 48-h ultra-marathon run in middle-aged male amateur runners // Eur. J. Appl. Physiol. - 2013. - Vol. 113. - P. 2781–2793.