

**ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА КИСЛОРОДНОГО ОБМЕНА
ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА**

*Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии,
Минск, Беларусь
220114, г. Минск, пр. Ф. Скорины, 24 Тел./факс +37517 267 16 25*

*Э.П. Титовец, Л.П. Пархач, Т.С. Степанова, Л.И. Матусевич
Конт. тел.: +37517 267 19 95, +37529 691 79 38 (Эрнст Петрович Титовец)*

Резюме.

Разработана новая технология исследования кислородного обмена эритроцитов с применением устройства, в котором реализован принцип открытой системы. Новый экспериментальный подход обеспечивает возможность изучения кислородного обмена эритроцитов в области физиологических значений парциального давления кислорода и в расширенном временном диапазоне. Установлено, что скорости кислородного обмена эритроцитов ингибируются хлоридом ртути и тиопенталом, что указывает на вовлечение аквапорина AQP1 в этот обмен. Получены данные об активации кислородного обмена эритроцитов низкими концентрациями перфторана.

Ключевые слова: мембрана эритроцитов, активный транспорт кислорода, аквапорины.

E.P. Titovets, L.P. Parkhach, T.S. Stepanova, L.I. Matusевич

Study of the Mechanism of Oxygen Metabolism in Human Red Blood Cells

*National Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery
Minsk, Belarus*

SUMMARY

A new technology was developed to investigate red blood cell (RBC) oxygen exchange in an open system device. The new experimental approach makes it possible to study the RBC cell oxygen exchange at an expanded scale and within physiological range of oxygen partial pressure. It was demonstrated that RBC oxygen exchange rate was inhibited by mercury chloride and Thiopental which was interpreted to indicate the involvement of AQP1 in the process. The data

were obtained on the activating effect of low concentrations of Perftoran on RBC oxygen exchange.

Интерес к изучению механизмов эритроцитарного газообмена возрос после того, как было показано, что аквапорин AQP1, интегральный водный канал мембраны эритроцитов, в определенных условиях способен переносить кислород и углекислый газ [4, 6, 8, 9, 10, 14,19]. Известный ранее механизм транспорта кислорода, основанный на концепции простой физико-химической диффузии, оказался уже не единственным. Ввиду этого определение роли аквапоринов в трансмембранном газообмене приобретает важное значение для понимания как собственно механизмов эритроцитарного газообмена, так и механизмов тканевого дыхания, их нарушений, возможностей фармакологической коррекции патологических изменений.

AQP1, количественно преобладающий канал мембраны эритроцитов, относится к “тиольным” аквапоринам, активность которого связана с состоянием –SH группы, располагающейся внутри собственно просвета водного канала [4]. Нашими ранними исследованиями было показано, что тиольные аквапорины принимают участие как в кислородтранспортных процессах тканей головного мозга, так и в трансмуральном массопереносе кислорода [3, 5, 16]. По-видимому, функция переноса воды и газов этим аквапорином реализуются в рамках одних и тех же структур канала.

На активность AQP1, оказывают ингибирующее действие низкомолекулярные соединения ртути, а также такие фармакологические средства, как тиопентал, фенобарбитал и пропофол, применяемые для внутривенного наркоза [19]. Не смотря на то, что ингибирующее действие этих соединений описано по отношению к основной функции этого канала – переносу воды, есть определенные основания к использованию этих ингибиторов и при оценке кислородтранспортной функции AQP1.

Наряду с ингибиторами аквапоринов, обращают на себя внимание потенциальные активаторы трансмембранного переноса газов, например перфторуглероды. Последние уже используются в качестве газопереносящего компонента в составе кровезамещающих эмульсий. В клинике перфторан, фармакологический препарат, включающий перфторуглероды, применяют при лечении ишемии головного мозга, инфаркта миокарда, хронических и острых анемий, нарушениях микроциркуляции, нарушениях метаболизма различной этиологии, в аппаратах искусственного кровообращения и т.д. [21,24].

Предполагают, что перфторуглероды, встраиваясь в мембраны, образуют своеобразные «кислородные каналы», обеспечивающие облегченную диффузию кислорода

(Г.Р.Иваницкий, 2000, В.Барышев 2001). Перфторуглероды, посредством изменения микровязкости липидного бислоя, могут существенно повлиять на кинетические характеристики аквапоринов. Интересно отметить, что малые дозы эмульсий перфторуглеродов могут, непропорционально их малой кислородной емкости, повышать до 30 % и выше доставку кислорода к тканям в условиях гипоксии и ишемии [13].

В литературе приводятся данные о том, что перфторан способствует освобождению кислорода в тканях, изменяя кривую диссоциации оксигемоглобина [21]. В связи с этим следует заметить, что кривая диссоциации оксигемоглобина характеризует термодинамику взаимодействия гемоглобина с кислородом, но не кинетику оксигенации или дезоксигенации эритроцитов. Таким образом, вопрос влияния перфторана на собственно кинетику кислородного обмена эритроцитов остается открытым.

Одним из подходов к экспериментальному изучению скоростей переноса кислорода через мембрану эритроцита является использование технологии остановленного потока в сочетании со спектрофотометрическим мониторингом кинетики оксигенации гемоглобина [11, 20]. К недостаткам этого метода относится необходимость создания больших градиентов парциального давления кислорода на мембране эритроцитов, быстрое формирование на мембране эритроцита неперемешивающегося слоя воды, влияющего на скорость переноса кислорода, значительная деформация эритроцитов [11,20]. Технология остановленного потока требует использования специального оборудования.

В соответствии с другим методическим подходом, обеспечивающим возможности длительного мониторинга массопереноса кислорода, прибегают к использованию дышащих дрожжей [12]. Последние вносят в среду вместе с эритроцитами. Чтобы получить скорость выхода кислорода из эритроцитов, суммарную скорость падения содержания кислорода в среде вычитают из скорости поглощения кислорода дрожжами. Мониторинг кислорода осуществляют полярографическим методом (содержание кислорода в среде) и спектрофотометрически (содержание оксигемоглобина). Этот метод позволяет исследовать только скорости выхода кислорода из эритроцита. Необходимость использовать дрожжи ограничивает возможности применения ингибиторов, поскольку они равным образом могут изменять скорость дыхания дрожжей. Последняя, как опорная расчетная величина, должна сохраняться постоянной. Оставляет желать лучшего точность определений.

На сегодня остается проблема разработки достаточно простого и информативного способа исследования кислородного обмена эритроцитов. Здесь необходимо обеспечить возможность определения скоростей оксигенации и дезоксигенации эритроцитов в широком диапазоне парциальных давлений кислорода, мониторинга этих процессов в реальном времени, применения ингибиторов и др.

В свете нового фундаментального знания изучение механизмов и способов регуляции скоростей трансмембранного переноса кислорода, в том числе с позиций вовлечения аквапоринов, приобретает особую важность и актуальность. Решение этой проблемы имеет большое теоретическое и практическое значение.

Целью настоящей работы являлась разработка оптимальной технологии исследования кислородного обмена эритроцитов, исследование механизмов трансмембранного переноса кислорода с применением ингибиторов и потенциальных активаторов этого процесса.

Материалы и методы исследований. Использовали донорскую кровь. Эритроциты ресуспензировали в охлажденном физиологическом растворе и пересаждали центрифугированием при 6000 g 15 мин. Отмывку эритроцитов производили три раза. Эритроцитарную массу ресуспензировали в буферном растворе следующего состава: NaCl – 86 мМ; Na₂HPO₄ – 21 мМ; NaH₂PO₄ – 8,3 мМ; CaCl₂ – 10 мкМ; pH – 7,4. Разведения готовили с содержанием эритроцитов 300000/мкл (другие разведения указаны далее в тексте). Исследования выполняли при 26°C или 36 °C.

Количество эритроцитов, содержание гемоглобина, гематокрит, средний объем эритроцита и среднее содержание гемоглобина в эритроците определяли с помощью гематологического анализатора *Nihon Condens MEK 7222*.

Мониторинг парциального давления кислорода осуществляли пролярографически с использованием кислородных сенсоров кларковского типа (см. ниже). Из соображений целесообразности результаты по кислороду представлены в единицах парциального давления (кПа, мм рт.ст.) или молярной концентрации. Переход от парциального давления к концентрации кислорода осуществляли с использованием соответствующих коэффициентов Генри. Обработку результатов производили с использованием программ *TableCurve* и *Microsoft Excel*. Выполняли статистическую обработку данных.

Использованы ингибиторы аквапорина AQP1 – хлорид ртути (х.ч.) и тиопентал производства ОАО «Синтез», РФ.

Перфторан производства фирмы «Перфторан», Россия, был любезно нам предоставлен профессором Е.И. Маевским.

Приборный комплекс для исследования кислородного обмена эритроцитов в открытой системе. Разработанное нами устройство для исследования кислородного обмена эритроцитов, в котором реализован принцип открытой системы, и блок-схема модульного приборного комплекса, включающего это устройство, показаны на рисунках 1 и 2,

Следует отметить, что полярографическая ячейка, где, аналогичным образом, был реализован принцип открытой системы, использовалась нами ранее при исследовании митохондриального дыхания и энергетического обмена [18, 28]. Этот подход оказался настолько успешным, что был применен нами и к изучению кислородного обмена эритроцитов. Однако, здесь возникла необходимость оптимизации геометрических параметров устройства и разработки алгоритма расчета показателей кислородного обмена эритроцитов.

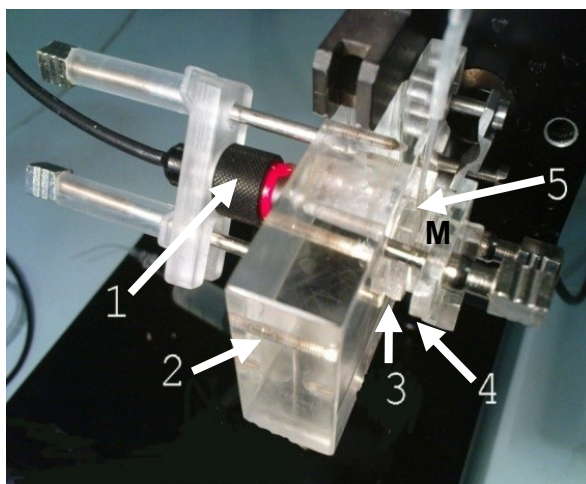


Рис. 1 Устройство для исследования кислородного обмена эритроцитов в условиях открытой системы.

1- кислородный сенсор кларковского типа; 2 – термостатируемый монтажный блок; 3 – камера для исследуемых эритроцитов; 4 – газообменный модуль; 5 – микромешалка.

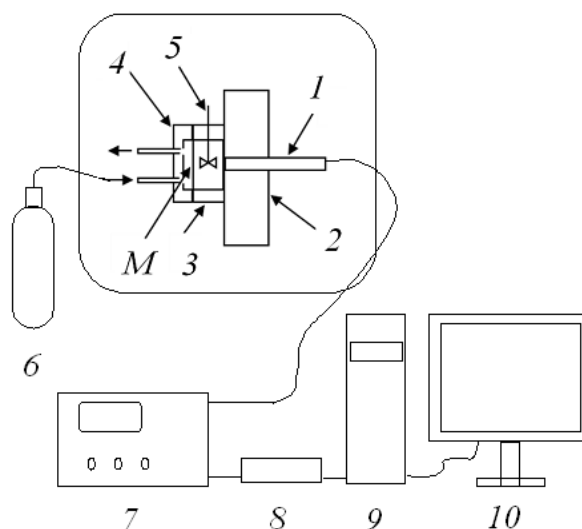


Рис. 2. Блок-схема устройства и приборного комплекса для исследования кислородного обмена эритроцитов в открытой системе

1 – кислородный сенсор кларковского типа; 2 – термостатируемый монтажный блок; 3 – камера для исследуемых эритроцитов (объем 0,25 мл); 4 – газообменный модуль; 5 – микромешалка; М – мембрана, проницаемая к кислороду; 6 – баллон с газовой смесью с заданным парциальным давлением кислорода; 7 – полярограф модели PNM 71 Mk2 *Radiometer Copenhagen*; 8 – аналого-цифровой преобразователь В-480; 9 – персональный компьютер; 10 – жидкокристаллический дисплей

Направленный перенос кислорода между камерой для эритроцитов и газообменным модулем (реализация принципа открытой системы по массопереносу кислорода) осуществляется через газопроницаемую мембрану по градиенту концентрации. Гомогенность среды в камере достигается перемешиванием с помощью микромешалки, приводимой в действие электродвигателем.

На рис. 3 продемонстрирован вид кинетических кривых сатурации и десатурации буферного раствора при смене направления градиента парциального давления кислорода в системе.

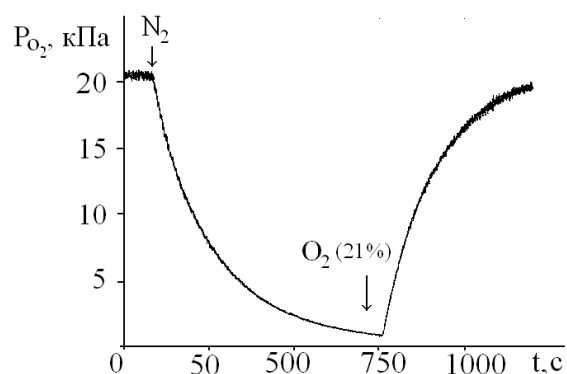


Рис. 3. Мониторинг парциального давления кислорода в измерительной камере при изменении направления градиента массопереноса кислорода

N_2 – через газообменный модуль пропускается азот O_2 (21%)– через газообменный модуль пропускается воздух (парциальное давление кислорода 150 мм рт. ст.)

В присутствии эритроцитов изменяется вид кинетических кривых по сравнению с исходными (как это показано, например, на рис. 5). Это связано с тем, что эритроциты связывают кислород при поступлении его в измерительную камеру (повышении парциального давления кислорода в измерительной камере) или отдают кислород при изменении направления потока кислорода (падении парциального давления кислорода в камере).

Разработанная технология исследования кислородного обмена эритроцитов позволяет исключить проблемы, присущие методу “остановленного потока”, который применяется для количественной оценки проницаемости эритроцитарной мембраны к кислороду. К отрицательным особенностям этого метода “остановленного потока” является то, что создаются значительные механические нагрузки на эритроцитарную мембрану, быстро формируется слой Нернста, что оказывает существенное влияние на скорости массопереноса кислорода, невозможность осуществления многократных циклов оксигенации и дезоксигенации эритроцитов, отсутствие доступа к эритроцитам в момент измерения и некоторые другие.

Принцип исследования кислородного обмена эритроцитов на разработанном нами устройстве поясняется схемой рис. 4. Одновременно эта схема и кинетические уравнения, приведенные ниже, описывают модель кислородного обмена эритроцитов с внешней средой.

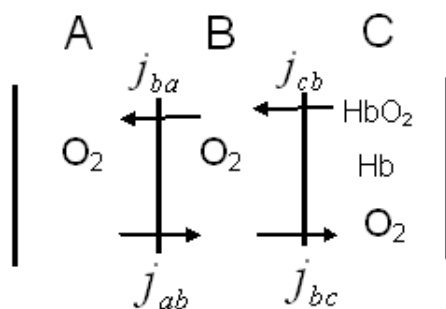


Рис. 4 – Кислородный обмен эритроцитов в системе открытого типа
(пояснения в тексте)

Здесь представлена трехкамерная модель массопереноса кислорода. В рамках этой модели камера А соответствует газообменному модулю, В – камере для исследуемых эритроцитов и С – представляет собственно обобщенный эритроцит. Поток кислорода между А и В определяется в соответствии с первым законом Фика как

$$j_{ab} = \alpha k(P_a - P_b), \quad (1)$$

где j_{ab} – поток кислорода между А и В; α – коэффициент Генри, k – коэффициент пропорциональности; P_a и P_b – парциальное давление кислорода соответственно в А и В.

Камера **B** представляет собой гомогенный реактор. В камере **A** поддерживается постоянной объемная скорость прохождения газовой смеси. Сопротивление диффузии между этими камерами сосредоточено на мембране **M**.

Перенос кислорода между компартаментами **B** и **C**, с учетом предположения о существовании двух механизмов переноса кислорода через эритроцитарную мембрану (диффузионного и переноса через аквапорин AQP1), можно представить суммой двух потоков:

$$\dot{J}_{bc} = \dot{J}_d + \dot{J}_{AQP}, \quad (2)$$

где \dot{J}_d – поток, определяемый физико-химической диффузией; \dot{J}_{AQP} – поток кислорода через канал AQP1.

Аналогично (1)

$$\dot{J}_d = \alpha k_{RBC} \Delta P, \quad (3)$$

где k_{RBC} – коэффициент пропорциональности при диффузионном переносе кислорода через эритроцитарную мембрану и ΔP – градиент парциального давления кислорода на мембране эритроцита.

Поток кислорода через аквапорины определится как

$$\dot{J}_{AQP} = L_p S \rho \Delta P, \quad (4)$$

где L_p – феноменологический коэффициент пропорциональности; S – суммарная поверхность эритроцитов; ρ – удельная плотность AQP1 на мембране эритроцита.

В рассматриваемом устройстве в любой момент времени известны величины парциального давления кислорода в **A** и **B**. В отсутствие эритроцитов определяются прямой, \dot{J}_{ab} , или обратный, \dot{J}_{ba} , потоки кислорода. В присутствии эритроцитов скорость изменения парциального давления кислорода в камере **B**, \dot{J}_b , представляет собой результирующую двух процессов: эритроцитарного массопереноса кислорода, \dot{J}_{bc} (или \dot{J}_{cb}) и потока \dot{J}_{ab} (или \dot{J}_{ba}). Например, в случае направленности потока кислорода из **A** в **B** парциальное давление кислорода в **B** будет изменяться со скоростью \dot{J}_b :

$$\dot{J}_b = \dot{J}_{ab} - \dot{J}_{bc} \quad (5)$$

Поток кислорода в эритроциты определится как

$$j_{bc} = j_{ab} - j_b \quad (6)$$

Скорость оксигенации эритроцитов получают путем вычитания из скорости поступления кислорода в измерительную камеру скорости изменения парциального давления кислорода в этой камере.

Исследования параметров кислородного обмена эритроцитов в описанной выше открытой системе осуществляли следующим образом. В камеру **В** (рис. 3 и 4) помещали буферный раствор, уравновешенный по кислороду с атмосферным воздухом. Через газообменный модуль пропускали азот и получали кинетическую кривую падения парциального давления кислорода в камере **В**. После достижения минимума парциального давления кислорода через газообменный модуль пропускали воздух (парциальное давление кислорода 21 %). Получали кривую оксигенации раствора. Далее в измерительную камеру вносили эритроциты и повторяли процессы дезоксигенации-оксигенации суспензии, как описано выше для буферного раствора. Скорости определяли методом графического дифференцирования с использованием программы *TableCurve* и, согласно (6), находили скорость оксигенации эритроцитов.

На рис. 5А приведен конкретный эксперимент по определению скоростей оксигенации и дезоксигенации эритроцитов. Здесь эритроциты выведены в область тканевого диапазона парциальных давлений кислорода, где и осуществлялись многократные циклы оксигенации и дезоксигенации с использованием воздуха и азота.

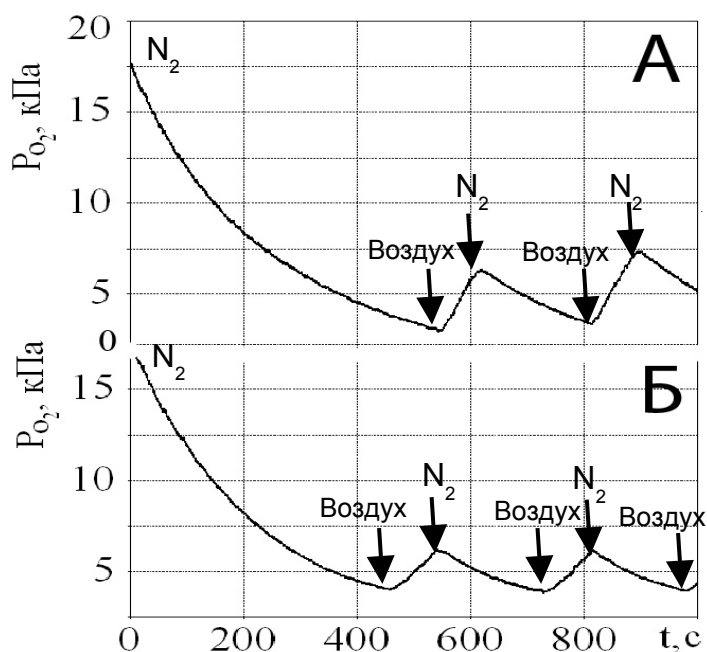


Рис. 5. Пример эксперимента по определению параметров кислородного обмена эритроцитов. А – в измерительной камере буферный раствор; Б – в измерительной камере эритроциты в количестве 300000/мкл. Объем камеры 0,25 мл. Температура 26 °С.

При исследовании кислородного обмена эритроцитов рассматривают несколько его этапов: перенос кислорода через эритроцитарную мембрану, диффузию кислорода внутри клетки и связывание его с гемоглобином. Представлялось необходимым определить в наших экспериментальных условиях кинетически лимитирующее звено этой последовательности. С этой целью было выполнено сравнительное исследование скоростей связывания кислорода интактными эритроцитами, с одной стороны, и скоростей связывания кислорода после осмотического лизиса эритроцитов, с другой. Количественные данные этих экспериментов приведены на диаграмме рис. 6. Скорости связывания кислорода лизированными эритроцитами, как и ожидалось, оказались выше, чем интактными эритроцитами, где отсутствует свободный гемоглобин. Это свидетельствует о том, что эритроцитарная мембрана представляет собой лимитирующее звено в процессе массопереноса кислорода к внутриклеточному гемоглобину.

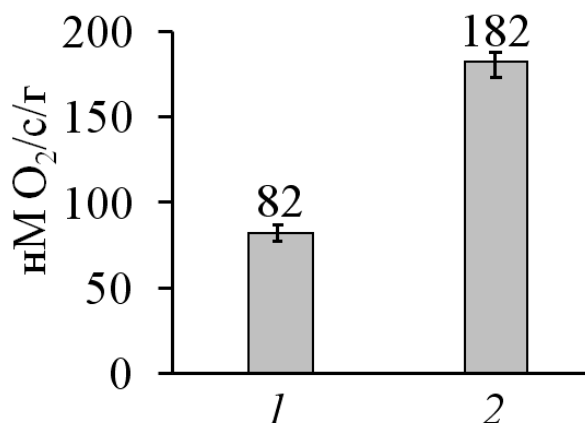


Рис. 6. Связывание кислорода эритроцитами (1) и гемоглобином лизированных эритроцитов (2). Скорости определены при 30 мм рт. ст. парциального давления кислорода и рассчитаны на грамм гемоглобина

Были выполнены эксперименты по изучению действия ингибиторов аквапорина AQP1 на эритроцитарный массоперенос кислорода. На рис.7 показаны результаты этих экспериментов. Скорость транспорта кислорода после воздействия хлорида ртути падает, что свидетельствует об участии AQP1 в этом процессе. Как известно, соединения двухвалентной ртути ковалентно связываются с SH-группой водной поры AQP1. Ингибирование

развивается постепенно, что и находит свое отражение в кинетике торможения скоростей массопереноса кислорода через эритроцитарную мембрану.

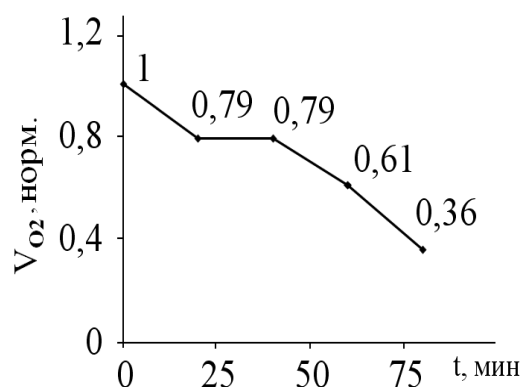


Рис. 7. Зависимость нормированных скоростей кислородного обмена эритроцитов от времени инкубации с хлоридом ртути. Скорости измерены при парциальном давлении кислорода равном 5 кПа и 36 °С. Концентрация хлорида ртути 1 мМ.

Как было предположено выше перенос кислорода через эритроцитарную мембрану может осуществляться по двум механизмам: механизму физико-химической диффузии и при участии аквапорина. После инкубации эритроцитов с ингибитором происходит торможение канального переноса, однако продолжает функционировать нечувствительный к ингибиторам диффузионный механизм. Данные рис.7 позволяют оценить относительный вклад каждого в трансмембранный перенос кислорода. Отношение суммарной скорости транспорта кислорода через эритроцитарную мембрану к диффузионной определится как:

$$(j_{d+j_{AQP}})/j_d = 2,8. \quad (7)$$

Тогда отношение скорости переноса кислорода через AQP1 к скорости физико-химической диффузии кислорода на момент времени максимального ингибирования AQP1 составляет:

$$j_{AQP}/j_d = 1,8. \quad (8)$$

Таким образом, при физиологических парциальных давлениях кислорода преобладает механизм облегченного переноса кислорода через AQP1.

При исследовании действия барбитуратов на скорости кислородного обмена эритроцитов последние инкубировали с тиопенталом натрия на протяжении 20 мин.. Концентрация барбитурата в измерительной камере соответствовала таковой, создаваемой в системной крови человека при его внутривенном введении (около 1мМ).

На рис. 8 показана зависимость нормированных величин скоростей связывания кислорода эритроцитами от времени их инкубации с тиопенталом натрия. Обнаружено, что торможение активности AQP1 развивается на протяжении 20 мин.

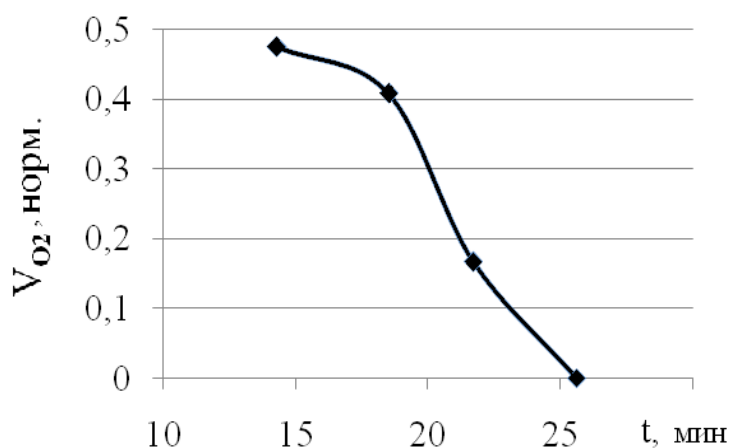


Рис. 8. Зависимость скорости кислородного обмена эритроцитов от времени инкубации с тиопенталом натрия

Среда – изотонический Na-фосфатный буфер, концентрация тиопентала натрия 1 мМ .
Определения при выполнены при 5 кПа парциального давления кислорода.

Расчет абсолютных скоростей эритроцитарного массопереноса кислорода показал, что после 20-ти минутного воздействия тиопентала скорость дезоксигенации падает от 9,7Па/с практически до нуля, скорость оксигенации эритроцитов снижается в пять раз (с 34,8Па/с до 7,0 Па/с). Результаты исследований подтверждены семью сериями экспериментов на эритроцитах от 5 доноров. Общее количество измерений при этом составило 260.

Таким образом, показано, что тиопентал натрия – барбитурат, применяемый в клинике для внутривенной анестезии и по некоторым другим показаниям, ингибирует трансмембранный транспорт кислорода и скорости кислородного обмена эритроцитов с внешней средой в физиологическом диапазоне парциальных давлений кислорода. Молекулярный механизм этого торможения связывается с ингибирующим действием тиопентала на активность основного канала мембраны эритроцитов – AQP1.

Исследования действия перфторана на скорость выхода кислорода из эритроцитов человека изучали с использованием сред, в которых перфторан разводили основным буфером соответственно в четыре и двадцать пять раз.

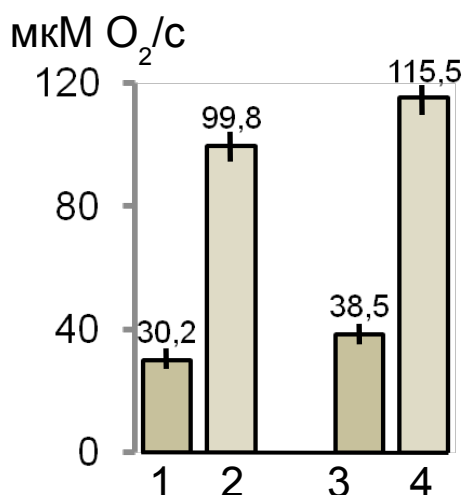


Рис. 9. Действие перфторана на скорость дезоксигенации эритроцитов

1 и 3 – эритроциты доноров в буферном растворе, 2 – эритроциты в среде с разведением перфторана в двадцать пять раз, 4 – эритроциты в среде с разведением перфторана в четыре раза. Скорости определены при парциальном давлении кислорода в среде 5 кПа (37.5 мм рт.ст.) и градиенте парциального давления кислорода 5 кПа. T=26 °C. Эритроциты в количестве 300 000/мкл.

Как видно из данных представленных на рис.9, в присутствии перфторана скорость выхода кислорода из эритроцитов в области физиологических значений парциального давления кислорода возрастает более трех раз. Этот эффект возникает уже при разведении перфторана в 25 раз. Маловероятно, что такое действие перфторана связано с повышением растворимости кислорода и увеличением его содержания в среде. Действительно, по нашим расчетам, коэффициент пропорциональности Генри в среде с разведением перфторана в 25 раз увеличивается лишь примерно на 8 % по сравнению с контрольным буферным раствором. Предположительно активирующее действие перфторуглеродов, входящих в состав перфторана, связано с модификацией слоя Нернста, окружающего мембрану эритроцитов. Это сопровождается понижением свободной энергии активации переноса этого газа через модифицированный слой Нернста. Вопрос об отношении перфторуглеродов к аквапоринам и, в частности аквапорину AQP1, остается открытым.

* * *

Реализация принципа открытой системы по массопереносу кислорода в разработанном нами устройстве, позволяет наиболее полно моделировать *in vitro* условия функционирования эритроцитов в кровеносных сосудах. Этот подход открывает новые

возможности исследования газотранспортной функции эритроцитов, недоступные другим методам.

Доминирующее на сегодня представление об исключительно физико-химическом механизме кислородного обмена эритроцитов с внешней средой вступает в противоречие с многими экспериментальными наблюдениями, описанными выше и данными литературы. Действительно, с позиций диффузионного механизма в неявном виде подразумевается, что собственно скорости переноса кислорода через эритроцитарную мембрану высоки и не лимитируют процесс оксигенации тканей. Такое представление фактически выводит из рассмотрения эту важную область знания о механизмах тканевого дыхания.

Процесс физико-химической диффузии не чувствителен к активаторам и ингибиторам переноса. В приведенных в настоящей работе исследованиях мы получили данные о наличии как ингибиторов, так и активаторов скоростей кислородного обмена эритроцитов. Важно то, что разработанный нами экспериментальный подход позволяет работать в диапазоне тканевых парциальных давлений кислорода. Кроме того, исходя из условий выполнения исследований, вполне очевидно, что на мембране эритроцита создаются весьма невысокие градиенты парциального давления кислорода. Все это приводит к уменьшению скоростей диффузионного переноса кислорода и позволяет обнаружить функционирование механизмов недиффузионной природы. Последние, по-видимому, реализуются при участии переносчиков кислорода, в частности, AQP1. На высокую вероятность вовлечение этого канала в процесс транспорта кислорода указывают факты торможения скоростей переноса кислорода при ингибировании активности аквапорина AQP1.

Выполненные исследования показывают, что скорости кислородного обмена эритроцитов могут вибрировать в широких пределах. Из других источников известно, что эти скорости уменьшаются, например, при диабетической энцефалопатии и что, в свою очередь, может вызывать приступы стенокардии [7]. Наиболее чувствительным органом к недостатку кислорода является головной мозг. Снижение поступлений кислорода в ткани головного мозга на 26% сопровождается нарушением сознания [1]. Вопрос о том, как отражается на уровне оксигенации тканей головного мозга и сердечной мышцы снижение скоростей трансмембранного переноса кислорода в эритроцитах мало изучен. Однако известно, что эритроциты, проходя через капилляр, не всегда успевают отдать кислород в количестве, определяемом величиной градиента парциального давления кислорода и уровнем парциального давления кислорода в окружающей ткани [2]. При снижении скорости трансмембранного переноса кислорода такая вероятность возрастает, как и вероятность развития локальной гипоксии тканей. Все это указывает на то, что скорости

транспорта кислорода через эритроцитарную мембрану могут определять уровень оксигенации тканей.

Важно то, что уже имеются возможности регуляции активности эритроцитарного уровня в последовательности процессов оксигенации тканей. Такая регуляция осуществима как в сторону активации (перфторуглероды), так и в сторону торможения (барбитураты). Последнее может оказаться полезным в рамках проведения антиоксидантной терапии. Интересно отметить, что барбитураты, наряду с эритроцитарным аквапорином AQP1, могут ингибировать и эндотелиальный AQP1, который в больших количествах представлен в эндотелии кровеносных сосудов и участвует в конвективном механизме оксигенации тканей [17, 4]. Применение барбитуратов может привести к углублению гипоксии тканей, оказывая ингибирующее воздействие на эти два уровня переноса кислорода, эритроцитарный и сосудистый.

Механизм, лежащий в основе активации массопереноса кислорода низкими концентрациями перфторуглеродов, требует дальнейшего изучения. В этой связи представляет большой интерес сама возможность управления процессом кислородного обмена эритроцитов этими соединениями.

Работа выполнена в рамках совместного Белорусско-Российского научного исследования и поддержана Фондом Фундаментальных Исследований Беларуси, грант БРФФИ-РФФИ № Б08Р-082 , и Российским Фондом Фундаментальных исследований, грант № 08-04-90053-Бел_а.

Литература

1. Иванов К. П., Кисляков Ю.Я.// Энергетические потребности и кислородное обеспечение головного мозга. «Наука».— Л.. – 1979. –214 С.
2. Иванов К. П. Успехи физиологических наук. – 2001. – Т.32.– № 4.– С.3-22.
3. Пархач Л.П., Титовец Э.П. // Весці НАН Беларусі. Сер.мед. навук. - 2005. - №.1. - С.35-37.
4. Титовец Э.П. Аквапорины человека и животных: фундаментальные и клинические аспекты.– Минск.– 2007.–239 с
5. Титовец Э.П., Пархач Л.П., Грибоедова Т.В., Власюк П.А. //Третья международная научно-практическая конференция. «Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования». - Витебск. - 2004. - С. 49-51.
6. Blank M.E., Ehmke H. // J. Physiol. – 2003. – Vol. 550. – N 2. – P. 419-429.
7. Buchwald H., Menchaca H., Michalek V. et al. // J. Am. Coll. Surg. –2000. – Vol.191. – N 5. – P. 490-497.
8. Carbrey J.M., Gorelick-Feldman D.A., Kozono D. et al. // Proc Natl Acad Sci USA. – 2003. – Vol.100. – P.2945-2950.
9. Endeward V., Musa-Aziz R.,Cooper G.J. et al. // FASEB J. – 2006. – Vol. 20. – P. 1974-1981.
10. Ivanov I.I., Loktyushkin A.V., Guskova R.A. et al. // Biochem., bioph. and molec. biol. – 2007. – Vol.414. – P.137-140.
11. Huxley V.H., Kutchai H.D. // J. Physiol. – 1981.– Vol. 316. – P. 75-83.
12. Kon K., Maeda N., Sekiya M. et al. // J. Physiol. –1980. –Vol. 309. –P. 569-590.
13. Maevsky E., Ivanitsky H., Islamov B.I. et al. //Perftoran. Blood Substitues, edited by Robert M. Winslow. – 2006. – P.288-297.
14. Michael E. Blank and Heimo Ehmke. // J. Physiol. – 2003. –Vol.550.– N 2. – P. 419–429.
15. Titovets E.P. //Analytical biochemistry. –1987.–Vol. 166.– 79-82.
16. Titovets E., Nechipurenko N., Griboedova T., Vlasyuk P. // Acta Neurochir. – 2000. – Vol. 76. – P. 279-281.
17. Titovets E.P. and Stepanova T.S. Conceptual mathematical model for convective mechanism of brain cortex oxygenation// News of Biomedical Sciences.–2004.– №2.– P.123-133

18. Titovets E.P, Koshkin V.V., Parhach L.P. Oxygen-flux control of mitochondrial respiration and energy function // News of biomedical science. 2005. –№ 1. –P.5-13.
19. Verkman A.S. //J. Physiol. – 2002. – Vol. 542. – N 1. – P.31.
20. Yamaguchi K., Nguyen-Phu D., Scheid P. et al. //J. Appl. Physiol. – 1980. – Vol. 58. – P. 1215-1224.
21. Zhiburt E.,B., Kovalenko A.V. // Blood Banking and Transfusion Medicine. – 2003. – Vol.1. – N 2. – P.93-95 003.