

**РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В РЕГУЛЯЦИИ
СРОДСТВА ГЕМОГЛОБИНА К КИСЛОРОДУ ПРИ СТРЕССЕ**

*Т.Л. Степура, В.В. Зинчук
Гродно, УО «ГрГМУ»*

Изучение свойств и биологической роли оксида азота позволило установить, что данная молекула является мессенджером, универсальным модулятором разнообразных функций организма, включая регуляцию дыхания, поддержание иммунного статуса организма, сердечно-сосудистого гомеостаза, активности макрофагов, экспрессии генов, пластичности нервной

ткани, памяти, высвобождения нейромедиаторов и т.д. Показана важная модулирующая роль оксида азота при стресс-реакции, что позволяет отнести L-аргинин-NO систему к «стресслимитирующей NO-системе» [3].

Основные механизмы действия оксида азота (NO), направленные на ограничение стресс реакции, включают ингибирование активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, вызываемую вазопрессинном [4], угнетение высвобождения катехоламинов из надпочечников и симпатических нервных окончаний [5], ограничение функции ренин-ангиотензиновой системы [6]. Кроме центрального, системного действия NO проявляет себя как защитный фактор на локальном, тканевом, уровне. Механизм действия данной молекулы связан со способностью регулировать активность антиоксидантных ферментов и экспрессию кодирующих их генов. Кроме того, сама молекула NO обладает антиоксидантными свойствами, что оказывается эффективным способом ограничения активации свободнорадикального окисления при стрессе [2].

Известно, что интенсивность оксигенных процессов определяется, в том числе, кислородсвязывающими свойствами крови (КССК) [1]. Функциональное состояние гемического компонента системы транспорта кислорода формируется под влиянием ряда факторов, таких как температура, 2,3-дифосфоглицерат, протоны, углекислый газ и т.д. В опытах *in vivo* было показано, что воздействие на L-аргинин-NO систему также оказывает влияние на процессы транспорта кислорода [1]. Однако, значение NO как компонента внутриэритроцитарной системы регуляции КССК исследовано не достаточно. На основании изложенного была поставлена цель оценить влияние доноров оксида азота на сродство гемоглобина к кислороду (СГК) *in vitro*.

Материал и методы. Для оценки возможности модификации СГК оксидом азота были проведены исследования *in vitro*. Образцы смешанной венозной крови кроликов инкубировали 30 минут при 37°C в герметичных условиях с донорами NO: S-нитрозоцистеином, S-нитрозо-N-ацетилпенициламином (SNAP), диэтиламин-NO (DEANO) и S-нитрозоальбумином (AlbSNO). В других опытах доноры NO добавляли в сатуратор, где происходило насыщение крови оксигенирующей смесью, состоящей из 94,5% O₂ и 5,5% CO₂, или дезоксигенирующей следующего состава: 94,5% N₂ и 5,5% CO₂. Во всех экспериментах концентрационные соотношения гемоглобина (тетрамера) и NO составляли 1:1 или 12:1 в эксперименте с AlbSNO. В контрольные образцы добавляли изотонический раствор хлорида натрия. СГК оценивали по следующим показателям: р50 реальное, измеренное при реальных значениях pH, рCO₂, температуры, и стандартное, рассчитанное для pH = 7,4, рCO₂ = 40 мм рт. ст. и температуры 37°C. Степень насыщения гемоглобина кислородом (SO₂, %) рассчитывали по уравнению Хилла. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью компьютерной программы "Statistica" (StatSoft, Inc., USA). Для анализа статистически значимых различий между группами использовали тест Манна-Уитни, а статистически значимым принимался уровень p<0,05.

Результаты и обсуждение. Воздействие доноров оксида азота на гемоглобин происходило при различном напряжении кислорода в крови. При

полной дезоксигенации крови различий в положении кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) контрольного и опытного образцов зафиксировано не было. Однако, с увеличением степени насыщения гемоглобина кислородом (в экспериментах с венозной кровью без насыщения или с насыщением оксигенирующей смесью) наблюдался левосторонний сдвиг КДО и разница между $p50_{\text{станд.}}$ в контроле и опыте достигала статистически значимого уровня. Так, при воздействии на венозную кровь S-нитрозоцистеина $p50_{\text{станд.}}$ снижалось на 2,8 мм рт. ст. В присутствии SNAP произошло уменьшение данного показателя на 3,3 мм рт. ст., а для опыта с AlbsNO – на 3,11 мм рт. ст. Насыщение крови оксигенирующей смесью приводило к уменьшению стандартного показателя сродства под действием S-нитрозоцистеина на 3,1 мм рт. ст., в присутствии DEANO на 3,8 мм рт. ст., а со SNAP на 3,2 мм рт. ст. Коэффициент корреляции между показателями SO_2 и $\Delta p50_{\text{станд.}}$ был равен 0,23 ($p=0,018$), что отражает соподчиненность данных параметров.

Влияние SO_2 на процессы модификации оксидом азота SGK можно объяснить кислород-зависимым образованием различных NO-опосредованных модификаций Hb, одни из которых (мет- и S-нитрозогемоглобин) вызывают увеличение SGK, а другие ($\alpha 5$ -координатная форма нитрозилгемоглобина) – его снижение. Физиологическое значение влияния NO заключается в том, что по мере роста напряжения кислорода в крови под действием данной сигнальной молекулы образуются формы гемоглобина, обладающие более высоким сродством к кислороду. Обусловленные NO сдвиги КДО способствуют, с одной стороны, более эффективному насыщению крови кислородом в малом круге кровообращения, а с другой, обеспечивают антиоксидантный эффект за счет ограничения потока кислорода в ткани и предотвращения процессов генерации свободных кислородных радикалов.

Заключение. Представленные результаты позволяют утверждать, что оксид азота реализует своё действие как компонент стресс-лимитирующей системы, в том числе, через механизмы регуляции КССК. Влияние NO на SGK не только обеспечивает адекватную оксигенацию тканей, но и определяет эффективность антиоксидантной системы как на системном, так и локальном уровнях.

Список литературы

1. Зинчук В.В. Участие оксида азота в формировании кислородосвязывающих свойств гемоглобина // Успехи физиологических наук. – 2003. – Т. 34 (2). – С. 33–45.
2. Малышев И.Ю., Манухина Е.Б. Стресс, адаптация и оксид азота // Биохимия. – 1998. – Т. 63 (7). – С. 992–1006.
3. Манухина Е.Б., Малышев И.Ю. Стресс-лимитирующая система оксида азота // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2000. – Т. 86, № 10. – С. 1283–1292.
4. Мацко М.А. Соотношение некоторых медиаторов стрессреализующих и стресслимитирующих систем в остром периоде ишемического инсульта // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2004. – № 4. – С. 14–16.
5. Herbert J., Goodyer I.M., Grossman A.B., Hastings M.H., de Cloet E.R., Lightman S.L., Lupien S.J., Roozendaal B., Seck J.R. Do corticosteroids damage the brain? // Journal of Neuroendocrinology. – 2006. – Vol. 18. – P. 393–411.
6. Kamal E., Habib M.D., Philip W., Gold M.D., George P. Chrousos. Neuroendocrinology of stress // Endocrinology and Metabolism Clinics. – 2001. – Vol. 30, № 3. – P. 695–728.