

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ДЕФИЦИТА КИСЛОРОДА НА КИСЛОТНО-ОСНОВНОЕ СОСТОЯНИЕ

Стасюк О.Н., Альфонсова Е.В., Авсеенко Н.Д.

ФБГОУ ВО Забайкальский государственный университет, Чита, e-mail: elena-alfonsova@yandex.ru

В настоящей работе представлены данные по изучению дефицита кислорода на кислотно-основное состояние в эксперименте у крыс. В качестве модели гипоксии принята гипоксия гермообъема, которая значительно изменяет кислотно-основное состояние (КОС) крови, оттекающей от мозга. Как установлено, изменения КОС находятся в прямой зависимости от времени пребывания животного в гермокамере и имеют характерную картину. Так, через 40 минут развивается состояние острого респираторного ацидоза с метаболическим компонентом, а после 46-минутного пребывания в гермокамере развивалось состояние декомпенсированного метаболического ацидоза (рН-6,7; рСО₂-94,6 мм рт. ст.) и наступала в 100 % случаях летальность. Через 20 минут после извлечения животного после 40 минутной гипоксии показатели кислотно-основного состояния приближаются к норме. Однако спустя 3 часа после извлечения из гермокамеры появляется новое состояние, характеризующееся явлением гипероксии, в скрининговых исследованиях можно использовать модель острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией для изучения нарушений кислотно-основного состояния различной глубины и продолжительности.

Ключевые слова: гипоксия, кислотно-основное состояние, метаболизм, ацидоз, алкалоз, метаболический ацидоз, лактат.

EXPERIMENTAL STUDY ON THE INFLUENCE OF OXYGEN DEFICIENCY AT THE ACID-BASE OF STATE

Stasjuk O.N., Alfonsova E.V., Avseenko N.D.

Zabaikalsky State University, Chita, e-mail: elena-alfonsova@yandex.ru

This article about influence hypoxia on the acid-base of state at the rats. The results of the acid-base state in condition hypoxia on the model hermetical hypoxy. The model hypoxia one can be used of the study acid-base state. As stated, the acid-base of state changes are directly dependent on the residence time in the animal germokamere and have a characteristic pattern. After 40 minutes in the model hermetical hypoxy influence acid-base of state pH include metabolic acidosis and after 46 minutes decompensated acidosis (pH-6,7; pCO₂-94,6 mmHg), rat at the dead. In period restoration after 20 minutes state acid-base after 40 minutes hypoxy indexes return at the norma. However, possible compensated include index oxygen. However, after 3 hours after removal from the Herm camera there is a new condition characterized by the phenomenon of hyperoxia. In screening studies can use the model of acute normobaric hypoxic hypoxia with hypercapnia to study disorders of acid-base status.

Keywords: hypoxia, acid-base of state, metabolism, acidosis, alcalos, metabolic acidosis, lactate.

Нарушения кислотно-основного баланса осложняют течение многих заболеваний, являясь важнейшей составляющей самых разнообразных нозологических форм патологии, включающих такие типовые патологические процессы, как воспаление, лихорадка, шок и другие [2, 4, 12]. При дисфункции жизненно-важных систем организма – респираторной, сердечно-сосудистой и мочевыделительной, становится невозможной ауторегуляция баланса кислот, оснований, электролитов и воды. Расстройства, будучи не распознанными и нескорректированными, во многом определяют исход лечения основного заболевания [4, 8].

В процессе эволюции чувствительность человека и животных к абсолютным изменениям концентрации углекислого газа во вдыхаемом воздухе сформировалась значительно выше, чем к изменениям концентрации кислорода. На начальном этапе

дефицита кислорода и избытка углекислого газа увеличивается оксигенация жизненно важных органов, вследствие уменьшения сродства гемоглобина к кислороду, что облегчает переход кислорода в ткани [1, 2, 6]. В то же время избыток углекислоты способствуют нейтрализации аммиака. Установлено, что у крыс при гипоксии гермообъема с увеличением концентрации углекислоты выше 40 мм рт. ст. газообмен улучшается [3]. Повышение концентрации углекислого газа в плазме на 8,0 об% приводит к увеличению на 10,66 мм.рт. ст. р CO₂ и к сдвигу рН на 0,1 влево. Восстановительный период после острой гипоксии с гиперкапнией протекает в виде быстрого возвращения показателей кислотно-основного состояния к исходным величинам [1, 2, 6].

Как известно, многочисленные химические реакции в организме протекают с образованием или потреблением протонов (H⁺). Значительное количество протонов выделяется при образовании CO₂ в процессе метаболизма, который взаимодействует с водой с образованием H⁺ протонов и HCO₃⁻. Изменение концентрации ионов водорода в среде сопровождается многочисленными сдвигами: изменяется насыщение протонакцепторных группировок в молекулах органических веществ, сродство между субстратом и ферментом и активность образуемого ими комплекса, стабильность структур макромолекул (белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов), направленность и скорость окислительно-восстановительных реакций, непременным участником которых является сам протон, а также стабильность зольей, составляющих биологическую среду, межкатионных соотношений, определяющих возбудимость и специфические эффекты клетки и др. [9-11]. Избыток CO₂ и протонов выводится, в итоге, легкими и почками, поддерживая в организме постоянным уровень H⁺. Различные буферные механизмы препятствуют сильному изменению концентрации [H⁺]. В стабилизации кислотно-щелочного равновесия и в транспорте конечных продуктов обмена к выделительным органам решающее значение придается буферным системам, называемыми также транспортными буферными, поскольку истинное назначение их не в коррекции КЩР, которое недостижимо без участия выделительных систем, а именно в смягчении (буферировании) нарушений на этапе транспортировки. Тем самым подразумевается зависимость буферных систем от состояния гидродинамики и органов выделения [9, 10]. В компенсации сдвигов рН всегда участвует внеклеточное пространство. Именно сюда из клетки поступают недоокисленные продукты обмена. В процессе водообмена кислые продукты разносятся по всему организму и перераспределяются в зоны с малой собственной продукцией протонов. В этом отношении значительной катионадсорбционной способностью обладает основное вещество соединительной ткани и коллагеновая сеть. Буферные свойства соединительной ткани могут

существенно изменяться [12]. Сдвиги рН оказывают влияние на многие структурные и функциональные свойства клетки, однако особенно к изменениям рН чувствительна каталитическая активность ферментов. Особое значение приобретает исследование внутриклеточного рН. С помощью внутриклеточных рН индикаторов, ядерного магнитного резонанса и микроэлектродов, было показано, что в норме, рН колеблется от 7,0 до 7,4. Например, при температуре 20 °С в мышце рН составляет 7,27, а при 37 °С – 7,0. В настоящее время известны основные буферные системы клетки и механизмы регуляции кислотно-основного состояния внутриклеточной среды. Эти механизмы во многом аналогичны характеру поддержания рН внеклеточных жидкостей [11, 12]. Несмотря на низкую концентрацию протонов в жидкостях организма, они оказывают существенное влияние на структуру и функции биологических мембран. Даже слабые сдвиги рН оказывают значительное влияние на скорость метаболических процессов и стабильность белков. Поэтому все живые организмы поддерживают постоянство этой величины на определенном уровне [13].

В настоящей работе основной целью явилось изучение влияния дефицита кислорода на кислотно-основное состояние крыс в эксперименте.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнено на лабораторных крысах массой 100–140 грамм. Животные содержались в стандартных условиях ухода и диеты вивария. На модели гипоксии гермообъема или острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией (ОННГ) при помощи аппарата микро-Аstrup (Дания) и привлечением номограмм Zigaard-Andersen нами изучено влияние данного вида гипоксии на кислотно-основное состояние (КОС) в ранний постгипоксический период (первые 3 часа извлечения крысы из гермообъема). Острую прогрессирующую нормобарическую гипоксическую гипоксию с гиперкапнией создавали для крыс возрастом 3–4 месяца массой 100 – 140 г в гермокамере объёмом 1000 мл в течение 40 мин (по М. В. Кораблеву и П. И. Лукиенко в модификации Ю. А. Белозерцева и Н. Д. Авсеенко (1995) [1].

Для характеристики кислотно-основного состояния (КОС) оценивались параметры: буферные системы крови уровень карбонатов (HCO_3), стандартных бикарбонатов (SBC), общих карбонатов ($t\text{CO}_2$), буферных оснований (BE), парциальное давление углекислого газа ($p\text{CO}_2$), парциальное давление кислорода ($p\text{O}_2$), щелочной резерв крови, концентрацию H^+ -ионов рН, концентрацию молочной кислоты (анализатор газов и электролитов «ABL 800 Flex» Дания). При этом были использованы реактивы фирмы Radiometer, (Дания).

В работе с экспериментальными животными были соблюдены требования, изложенные в «Методических рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985). Статистическая обработка материала

проводилась на IBM PC с использованием пакета программ Microsoft Excel 2007 для операционной системы Windows 7. Достоверность различий показателей в группах оценивали по величине t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение. Согласно результатам исследования после извлечения из гермокамеры, крысы по показателям КОС крови резко отличались от интактных животных. Отмечалось снижение рН крови до 6,66, что согласно литературным данным [1, 2, 5, 6] соответствует ацидозу тяжелой степени и приводит к смещению изоэлектрической точки эритроцитов. При этом резко возрастало парциальное напряжение углекислого газа (в 2,5 раза, при $P < 0,001$), парциальное напряжение кислорода изменялось незначительно, что соответствует литературным данным [6]. Одновременно резко истощался бикарбонатный буфер (таблица). Наблюдения показали, что если рН остается на этом же уровне, парциальное напряжение углекислого газа возрастает до $96,20 \pm 3,7$ мм рт. ст., а также происходит снижение парциального напряжения кислорода. Из этого следует, что развивается респираторный ацидоз. Избыточное накопление ионов водорода, как известно, компенсируется связыванием буферными системами. В данном случае при 40 минутной ОНГГ наступает истощение буферных систем, рН резко сдвигается влево, наступает декомпенсированный метаболический ацидоз (таблица).

Динамика восстановительного периода имеет следующий характер согласно полученным результатам. Спустя 20 минут от момента извлечения из гермокамеры рН возвращается к исходному уровню (исходное состояние 7,24; после 40 минутной экспозиции снижается до 6,66 и через 20 минут составляет 7,23). Парциальное напряжение углекислого газа также резко изменяется и составляет $20,7 \pm 2,2$ мм.рт.ст. Более плавно происходит восстановление парциального напряжения кислорода (с 40,3 до 49,6 мм рт. ст.). Восстановительный период длиной в 3 часа приводит к изменению показателей КОС крови крыс по сравнению с показателями исходного состояния и 40 минутной экспозиции в условиях нормобарической гипоксии. Эти показатели свидетельствуют о том, что в 3-часовой период восстановления происходит приближение показателей кислотно-основного состояния крови мозга крыс к исходному. Однако данные указывают на то, что к концу 3 часа возникает состояние гипероксии. Подобные изменения описаны в литературе и укладываются в состояние под названием респираторный ацидоз [1, 2, 6], который получен нами в условиях ОНГГ. Более длительное пребывание крысы в гермокамере (46 минут) приводило к летальному исходу.

Изменение показателей кислотно-основного состояния крови под влиянием нормобарической гипоксической гипоксии в эксперименте у крыс

Группы животных	n	pH	pCO ₂ мм.рт.ст.	pO ₂ , ммол/л	AB ммол/л	BE, ммол/л	CO ₂ , ммол/л
Интактные крысы	16	7,24±0,02	36,9±2,6	49,6±1,7	14,2±0,8	14,9±0,7	13,2±0,9
Гипоксия (40 мин)	21	6,66±0,02**	74,5±4,8**	40,3±4,3	7,5±0,4**	29,9±0,3**	8,6±0,6
Через 20 мин после гипоксии (40 мин)	10	7,33±0,003	20,7±2,2**	49,6±3,3	10,4±0,9*	15,0±0,9	15,0±0,9**
Через 3 часа после гипоксии (40 мин)	8	7,22±0,02	22,4±0,7**	67,8±3,9**	8,3±0,9**	20,3±1,9	9,08±0,9**
Гипоксия (46 минут)	12	6,70±0,02*	96,2±3,7**	33,3±4,7*	7,4±1,2**	26,5±0,9**	7,2±0,6**

Примечание : * – p < 0,05; ** – p < 0,01; n-число животных.

Пределы pH крови, совместимые с жизнью, составляют от 7,0 до 7,8. Оптимальными показателями крови крыс являются показатели pH в пределах 7,36–7,44. Известно, что при сдвиге pH в кислую сторону, изменения от 7,36 до 7,24 называется субкомпенсированным ацидозом, ниже 7,24 – компенсированным ацидозом, и меньше 7,0 – декомпенсированным [1, 2, 3]. В условиях нормобарической гипоксии в гермокамере ацидоз возникает, вероятно, за счет накопления углекислоты, которая очень легко диссоциирует с образованием ионов водорода и карбоната (H^+ и HCO_3^-). Наблюдаемые сдвиги гомеостаза могут быть использованы в качестве показателей, характеризующих глубину дефицита кислорода у крыс. У интактных животных pH находится в пределах 7,26–7,30, тогда как после извлечения животного из гермокамеры происходило снижение pH до 6,7–6,98. Значения щелочного резерва крови (AB, BE, tCO₂) изменялись соответственно имеющимся показателям основных составляющих в те же временные периоды (таблица).

Таким образом, при гипоксии данного вида у крыс, развивается респираторный ацидоз с метаболическим компонентом. В зависимости от длительного пребывания в гермокамере сдвиги кислотно-основного состояния крови имеет характерную картину. У крыс через 40 минут развивается состояние острого респираторного ацидоза с метаболическим компонентом, после 46-минутного пребывания в гермокамере, которое можно охарактеризовать как состояние декомпенсированного метаболического ацидоза

наступала в 100% случаях летальность. Через 20 минут после гипоксического воздействия (40 минутной экспозиции ОНГГ) показатели кислотно-основного состояния приближаются к норме. Однако, спустя 2 часа после извлечения из гермокамеры появляется новое состояние, характеризующееся явлением гипероксии, что соответствует литературным данным. При нарастании концентрации углекислоты в тканях происходит закисление внутритканевой жидкости, что проявляется сдвигом рН в кислую сторону. Сдвиг внутриклеточного рН в сторону ацидоза оказывает положительное влияние на тканевой метаболизм мозга и снижает потребность мозга в кислороде [1, 2, 5, 6]. При изучении обменных процессов установлено, что острая гипоксия изменяет также активность трансаминаз АЛТ, АСТ [7].

Нормобарическая гипоксическая гипоксия с гиперкапнией является более физиологичной на начальной стадии своего развития по сравнению с гипоксической гипобарической гипоксией без избытка углекислоты в качестве повреждающего воздействия. Исходя из выше изложенного, можно утверждать, что в скрининговых исследованиях можно использовать модель острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией для изучения нарушений кислотно-основного состояния различной глубины и продолжительности.

Статья написана в рамках государственного задания Минобрнауки РФ по Вузу № 2707 – 2014-2016 гг.

Список литературы

1. Авсеенко Н.Д. Изменение кислотно-основного состояния под влиянием гипоксического фактора внешней среды и возможная фармакокоррекция / Ю.А. Бёлозерцев, В.Н. Рогожникова, В.Н. Наумкина и др. // Материалы конф.: Экологическая патология. Вопросы биохимии, фармакологии, клиники. – Чита, 1995. – С. 237-238.
2. Байрамов А.А. Метаболическая коррекция состояний сердечно-сосудистой системы / А.А. Байрамов, А.А. Богданова, П.А. Солдатенков // РМЖ. – 1999. – № 6. – С. 53.
3. Иванов И.П., Кисляков Ю.Я. Энергетические потребности и кислородное обеспечение мозга. – Л.: Наука, 1979. – 197 с.
4. Костюченко С.С. Кислотно-щелочной баланс в интенсивной терапии. – Минск, 2009. – 268 с.
5. Лукьянова Л.Д. Сравнительный анализ белков коры головного мозга крыс с разной чувствительностью к гипоксии / Л.Д. Лукьянова, В.И. Богомолов // Бюлл. экспериментальной биологии и медицины. – 1992. – № 12. – С.657-660.

6. Маилян Э.С. Комбинированный метод изучения тканевого дыхания в условиях естественного гипоксического состояния / Э.С. Маилян, Е.А. Коваленко, Л.Б. Буравкова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1981. – №5. – С. 103-109.
7. Островская Р.У. Соотношение антигипоксии / Р.У. Островская, С.С. Трофимов // Механизм действия и клиника производных ГАМК. – Тарту,1984. – С.46-48.
8. Унжаков В.В. Методы интенсивной терапии лактат-ацидоза у больных с острой тяжелой черепно-мозговой травмой / В.В. Унжаков, К.Е. Пошатаев // Дальневосточный медицинский журнал. – 2009. – № 1. – С. 40-41.
9. Acid-base balance / Edited by R. Hainsworth. – Manchester University Press, 1986. – 157 p
10. Attwell D. The physical chemistry of acid-base balance / D. Attwell // Manchester University Press. – 1986. – 23 p.
11. Boron W. F. Na-H exchange, intracellular pH, and cell function: Current topics in membranes and transport / W. F. Boron, P. S. Aronsen // New York: Academic Press, 1986. – 122 p.
12. De Backer D. Lactic acidosis / D. De Backer //Intensive Care Med. – 2003. – Vol. 29. – P. 699 -702.
13. Somero G.N. PH-temperature interactions on proteins: Principles of optimal pH and buffer system design / G.N. Somero // Marine Biol. Letters. – 1981. – № 2. – P. 163-178.