

УДК 612.57: (616.152.21: 616.155.16)

В.В.Зинчук, М.В.Борисюк, В.Н.Корнейчик, Т.В.Бушма

Анализ изменений основных параметров перекисного окисления липидов и кислородтранспортной функции крови при пирогеналовой лихорадке

Визначали вміст основних продуктів перекисного окислення ліпідів і спорідненість гемоглобіну до кисню в змішаній венозній крові при пирогеналовій лихоманці у кроликів і на основі факторного аналізу вивчали їх взаємовідношення. Отримана модель групової структури цих ознак свідчить про індукований вплив правостороннього зсуву кривої дисоціації оксигемоглобіну на процеси вільно-радикального окислення ліпідів.

Введение

Между гемическим компонентом системы транспорта кислорода и уровнем прооксидантно-антиоксидантного равновесия в организме существует определенное соответствие, нарушение которого обуславливает изменение активности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [2]. Как известно, при лихорадке наблюдается активация ПОЛ [5], но состояние кислородтранспортной функции (КТФ) в частности сродство гемоглобина к кислороду (СГК) и ее роль в активации ПОЛ при этом состоянии практически не исследовались.

Целью нашей работы было изучение и анализ изменений основных параметров активности ПОЛ и КТФ крови при пирогеналовой лихорадке.

Методика

Эксперименты проведены на 15 беспородных кроликах-самцах массой 2,4—3,1 кг. Лихорадку моделировали введением внутривенно пирогенала (4 МПД/1 кг). Кровь забирали с помощью катетера через яремную вену из правого предсердия до введения пирогенала и к концу 2, 3 и 4-го часов после его введения.

PO_2 и параметры кислотно-основного равновесия крови определяли на микрогазоанализаторе ABL-330 фирмы «Radiometer» (Дания). СГК оценивали по показателю P_{50} (PO_2 крови, соответствующее 50 %-му насыщению ее кислородом), который определяли методом «смешивания» в нашей модификации [3] и корректировали по формулам Severinghays [12]. На основании полученных значений P_{50} по уравнению Хилла рассчитывали положение кривых диссоциации оксигемоглобина. Содержание диеновых конъюгатов (ДК) оценивали по изменению образуемых конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов [4], концентрацию малонового диальдегида (МДА) — спектрофотометрически [1]. Концентрацию оснований Шиффа (ОШ) определяли на спектрофлуориметре F-4010 фирмы «Hitachi» (Япония) по интенсивности флуоресценции хлороформного экстракта при длине возбуждения 344 нм и длине волны флуоресценции 440 нм [9]. Изменение ректальной температуры регистрировали с помощью электротермометра ТПЭМ-01. Результаты обрабатывали статистически на персональ-

© В.В.ЗИНЧУК, М.В.БОРИСЮК, В.Н.КОРНЕЙЧИК, Т.В.БУШМА, 1995

ном компьютере с помощью методов многомерного статистического анализа [6] (пакет «Statgraphics, США»).

Результаты и их обсуждение

Максимальный прирост температуры $2,9^{\circ}\text{C} \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ ($P < 0,05$) отмечался на 3-м часу после введения пирогенала. К концу 4-го часа пирогеналовой лихорадки ректальная температура имела значение $39,0^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ ($P < 0,05$). В табл. 1 приведены результаты основных параметров кислотно-основного равновесия крови. рН крови к концу 3-го часа возрастал с $7,317 \pm 0,025$ до $7,398 \pm 0,015$ ($P < 0,05$). PO_2 крови уменьшалось к концу 2-го часа с $45,3 \pm 1,5$ до $33,4$ мм рт.ст. $\pm 0,8$ мм рт.ст. ($P < 0,01$), несколько снижаясь в последующие 2 ч: $32,0$ мм рт.ст. $\pm 0,8$ мм рт.ст. и $32,8$ мм рт.ст. $\pm 0,8$ мм рт.ст. ($P < 0,01$). В целом, такая динамика сохранялась для этих параметров и с учетом реальной температуры тела. Концентрация гидрокарбонатов и стандартного бикарбоната при этом уменьшалась, избыток буферных оснований рос, что свидетельствовало о развитии компенсированного респираторного ацидоза, обусловленного, очевидно, тепловой одышкой. Значение PO_2 крови существенно не менялось, а реальное PO_2 несколько повышалось, что в совокупности с результатами кислотно-основного равновесия свидетельствует об умеренных нарушениях кислородного обеспечения организма.

Таблица 1. Влияние пирогенала на основные параметры кислотно-основного равновесия крови ($M \pm m$, $n=15$)

Показатель	До введения пирогенала	После введения пирогенала к концу		
		2-го часа	3-го часа	4-го часа
Водородные ионы:				
при стандартной температуре (37 °C)	7,317±0,025	7,393±0,012*	7,398±0,015*	7,364±0,015
при реальной температуре	7,321±0,021	7,359±0,011	7,359±0,015	7,334±0,015
Напряжение углекислого газа, мм рт. ст.				
при стандартной температуре (37 °C)	45,3±1,50	33,4±0,80*	32,0±0,79*	32,8±0,80*
при реальной температуре	44,6±1,20	37,3±0,83	35,8±0,90	35,8±0,60
Напряжение кислорода, мм рт. ст.				
при стандартной температуре (37 °C)	34,6±0,90	33,4±0,80	32,2±1,00	33,1±1,10
при реальной температуре	34,1±1,30	39,2±1,10	38,8±1,20	38,3±1,40*
Концентрация гидрокарбоната, ммоль/л	23,02±0,96	20,33±0,46*	19,57±0,67*	18,5±0,77*
Концентрация общей углекислоты, ммоль/л	24,43±0,95	21,36±0,48*	20,68±0,62*	19,55±0,78*
Реальный дефицит буферных оснований, ммоль/л	-2,65±1,19	-4,02±0,56	-4,42±0,82*	-5,93±0,93*
Стандартный дефицит буферных оснований, ммоль/л	-2,48±1,18	-4,24±0,54	-4,59±0,79	-6,04±0,89*
Концентрация стандартного би- карбоната, ммоль/л	21,75±0,99	20,84±0,47	17,86±1,17*	19,14±0,75*

Примечание. Здесь и в табл. 2 статически достоверные различия относительно исходного значения.

Показатель P_{50} при стандартных значениях (pH 7,4 P_{CO_2} 40 мм рт.ст. и температуре 37 °C) уменьшался с $32,6 \pm 0,5$ до $29,7$ мм рт.ст. $\pm 0,5$ мм рт.ст. ($P < 0,05$) к концу 2-го часа лихорадки и сохранялся на этом уровне в последующие 2 ч. Реальная величина P_{50} у экспериментальных животных при измеренных у них pH , P_{CO_2} и температуре увеличивалась на высоте подъема температуры с $29,8 \pm 1,4$ до $34,2$ мм рт.ст. $\pm 0,8$ мм рт.ст. ($P < 0,05$), свидетельствуя о сдвиге кривой диссоциации оксигемоглобина вправо в реальных условиях циркуляции крови (рис. 1). К концу 4-го часа лихорадки реальное P_{50} приближалось к исходному значению.

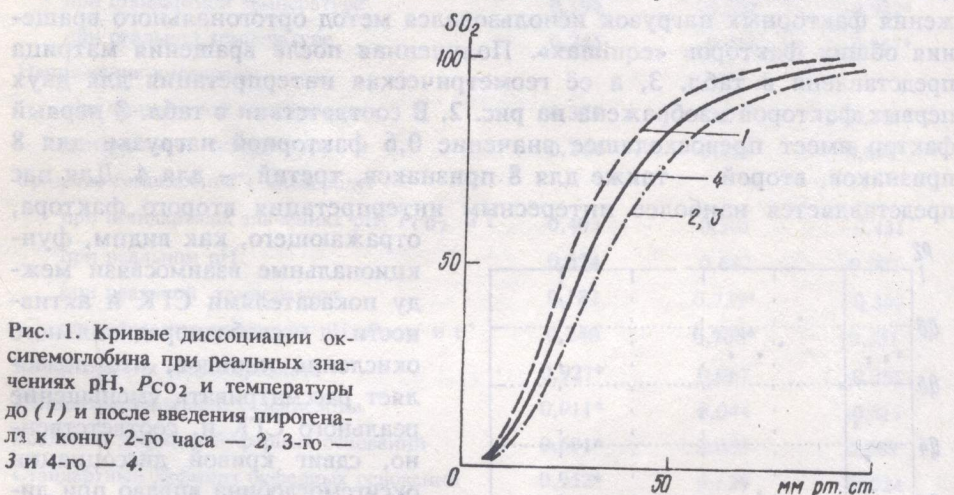


Рис. 1. Кривые диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH , P_{CO_2} и температуры до (1) и после введения пирогенала к концу 2-го часа — 2, 3-го — 3 и 4-го — 4.

Концентрация основных продуктов ПОЛ в плазме и эритроцитах в целом имела тенденцию к повышению (табл. 2). Концентрация ДК практически не изменялась в плазме, возрастала в эритроцитах с $15,3 \pm 1,16$ в исходном состоянии до $19,76 \Delta D_{233}/мл \pm 1,08 \Delta D_{233}/мл$ ($P < 0,05$) и $18,74 \Delta D_{233}/мл \pm 1,13 \Delta D_{233}/мл$ ($P < 0,05$) на 2-м и 3-м часу соответственно после введения пирогенала. На 3-м и 4-м часах концентрация МДА в плазме и эритроцитах возрастала до $1,47$ мкмоль/мл $\pm 0,07$ мкмоль/мл ($P < 0,05$) и $9,31$ мкмоль/мл $\pm 0,56$ мкмоль/мл ($P < 0,05$) соответственно, при исходном

Таблица 2. Активность перекисного окисления липидов до и после введения пирогенала ($M \pm m$, $n=15$)

Показатель	До введения пирогенала	После введения пирогенала к концу		
		2-го часа	3-го часа	4-го часа
Содержание диеновых конъюгатов, $\Delta D_{233}/\text{мл}$:				
в плазме	$1,82 \pm 0,41$	$1,84 \pm 0,41$	$1,96 \pm 0,11$	$1,34 \pm 0,14$
в эритроцитах	$15,30 \pm 1,16$	$19,76 \pm 1,08^*$	$18,74 \pm 1,13^*$	$15,74 \pm 1,48$
Концентрация малонового диальдегида, $\mu\text{моль}/\text{мл}$:				
в плазме	$0,754 \pm 0,045$	$1,34 \pm 0,08^*$	$1,47 \pm 0,07^*$	$1,16 \pm 0,06^*$
в эритроцитах	$6,25 \pm 0,32$	$8,74 \pm 0,44^*$	$9,31 \pm 0,56^*$	$7,31 \pm 0,41$
Содержание оснований Шиффа, $\text{ед}/\text{мл}$:				
в плазме	$5,01 \pm 0,72$	$9,81 \pm 1,12^*$	$12,80 \pm 1,29^*$	$8,61 \pm 1,42$
в эритроцитах	$30,38 \pm 4,44$	$43,50 \pm 6,39$	$56,24 \pm 9,14^*$	$40,73 \pm 6,26$

0,75 мкмоль/мл $\pm$ 0,05 мкмоль/мл и 6,25 мкмоль/мл $\pm$ 0,32 мкмоль/мл. На высоте перегревания концентрация ОШ возрастала в плазме на 156 %, в эритроцитах — на 78 %. Рост данных показателей отражает усиление ПОЛ.

Методом факторного анализа исследовался массив результатов, включающих 23 параметра ПОЛ и КТФ крови. Решено было ограничиться рассмотрением трех факторов. Система из трех факторов имеет долю дисперсии 72,4 %. Для оптимизации некоторого алгебраического выражения факторных нагрузок использовался метод ортогонального вращения общих факторов «equimax». Полученная после вращения матрица представлена в табл. 3, а её геометрическая интерпретация для двух первых факторов изображена на рис. 2. В соответствии с табл. 3 первый фактор имеет превосходящее значение 0,6 факторной нагрузки для 8 признаков, второй — также для 8 признаков, третий — для 4. Для нас представляется наиболее интересным интерпретация второго фактора,

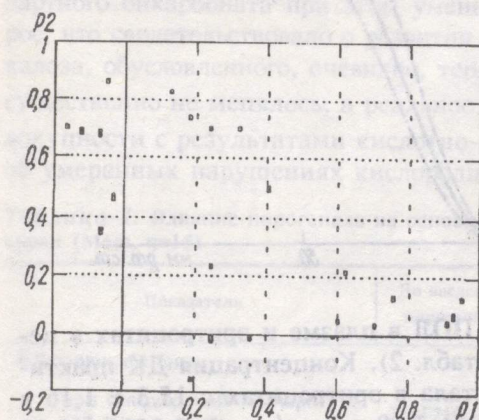


Рис. 2. Ортогональная структура с обозначенными точками-признаками для модели с двумя факторами. Rx1, Rx2 — факторные оси, полученные после вращения.

отражающего, как видим, функциональные взаимосвязи между показателями СГК и активности свободнорадикального окисления липидов, что позволяет рассматривать уменьшение реального СГК и, соответственно, сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо при лихорадке, как один из возможных механизмов активации ПОЛ.

Правосторонний сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина благоприятствует повышению содержания кислорода в тканях [7, 8], что, по-видимому, в определенных условиях обуславливает дисбаланс различных путей утилизации кислорода в организ-

ме и, в частности, усиление одноэлектронного переноса, сопровождающееся образованием таких реакционно-способных интермедиатов, как синглетный кислород, супероксидный и гидроксильный радикалы [10]. Синтез данных интермедиатов инициирует цепные окислительные реакции, вызывая лавинообразное нарастание окислительной деструкции липидов. Очевидно, в этих условиях механизмы антиоксидантной защиты организма, которые McCord [11] в силу определенной функциональной хрупкости сравнивает с «карточным домиком», не способны полностью выполнить свою защитную функцию.

Таким образом, проведенное исследование позволило установить характер изменения основных показателей кислородсвязующих свойств крови и ПОЛ и раскрыть их взаимоотношения между собой на основе факторного анализа. Полученная модель групповой структуры данных признаков свидетельствует об индуцирующем влиянии правостороннего сдвига кривой диссоциации оксигемоглобина на свободно-радикальное окисление липидов.

Таблица 3. Матрица факторного отображения, построенная по результатам кислородтранспортной функции крови и перекисного окисления липидов при лихорадке

Показатель	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3
Показатель водородных ионов:			
при стандартной температуре	0,622*	0,214	0,722*
при реальной температуре	0,756*	0,128	0,575*
Напряжение углекислого газа:			
при стандартной температуре	0,192	-0,533	-0,942*
при реальной температуре	0,245	-0,018	-0,867*
Напряжение кислорода:			
при стандартной температуре	0,355	-0,017	0,141
при реальной температуре	0,244	0,231	0,698*
Сродство гемоглобина к кислороду:			
при стандартных значениях pH, P_{CO_2} и t°	0,403	0,501	-0,431
при реальном pH	0,324	0,682	0,907
при реальной температуре	0,182	0,739*	-0,360
при реальных значениях pH, P_{CO_2} и t°	0,240	0,703*	0,351
Концентрация гидрокарбоната	0,927*	0,067	-0,261
Концентрация общей углекислоты	0,911*	0,044	-0,311
Реальный дефицит буферных оснований	0,601*	0,053	0,068
Стандартный дефицит буферных оснований	0,952*	0,129	-0,024
Концентрация стандартного бикарбоната	0,589	-0,007	-0,225
Содержание диеновых конъюгатов:			
в плазме	-0,030	0,460	0,102
в эритроцитах	0,129	0,825*	0,211
Концентрация малонового диальдегида:			
в плазме	-0,123	0,688*	0,553
в эритроцитах	-0,164	0,702*	0,431
Содержание оснований Шиффа:			
в плазме	0,071	0,676*	0,451
в эритроцитах	0,048	0,861*	0,177
Ректальная температура	-0,063	0,347	0,768*
Концентрация гемоглобина	0,736	0,027	0,018

Примечание. Звездочками обозначены значения нагрузок на признаки, имеющие величину больше 0,6.

V.V.Zinchuk, M.V.Borisyuk, V.N.Korneichik, T.V.Bushma

ANALYSIS OF CHANGES IN MAIN PARAMETERS OF LIPID PEROXIDATION AND OXYGEN-TRANSPORTING BLOOD FUNCTION DURING PYROGENAL FEVER

Content of main products of lipid peroxidation and hemoglobin affinity to oxygen were determined in mixed venous blood of rabbits during pyrogenal fever. Their relationships were studied on the basis of the factor analysis. The model of group structure of these parameters was obtained. It confirms the inducing influence of the rightward shift of the oxyhemoglobin dissociation curve on the processes of free-radical lipid oxidation.

Medical Institute, Grodno Ministry
of Public Health, Republic of Belarus

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Л.И., Кожемякин А.М., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. — 1988. — № 11. — С. 41—43.
2. Борисюк М.В., Корнейчик В.Н., Рожко А.В., Янкелевич Ю.Д. Гемический компонент системы транспорта кислорода в регуляции процессов перекисного окисления // Система транспорта кислорода — Гродно, 1989. — С. 6—13.
3. Борисюк М.В., Добродей М.А., Дремза И.К. и др. Сродство гемоглобина к кислороду // Методы исследования массопереноса в системе микроциркуляции. — Новосибирск, 1991. — С. 156—162.
4. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара А.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов // Лаб. дело. — 1988. — № 2. — С. 60—64.
5. Гурин В.Н. Терморегуляция и симпатическая нервная система. — Минск: Наука и техника, 1989. — 140 с.
6. Компьютерная биометрика / Под ред. В.Н.Носова. — М.: Изд-во МГУ, 1990. — 232 с.
7. Рябов Г.А. Гипоксия критических состояний. — М.: Медицина, 1988. — 232 с.
8. Середенко М.М., Дударев В.П., Лановенко И.И. и др. Механизмы развития и компенсации гемической гипоксии. — К.: Наук. думка, 1987. — 200 с.
9. Fletcher B.L., Dillard C.J., Tappel A.L. Fluorescent products of lipid peroxidation of mitochondria and microsomes // Anal. Biochem. — 1973. — 52, № 1. — P. 1—9.
10. Fridovich I. The biology of oxygen radicals // Science. — 1978. — 201, № . — P. 875—889.
11. McCord J.M. Free radicals and myocardial ischemia: overview and outlook // Free Radicals Biol. Med. — 1988. — 4. — P. 9—14.
12. Severinghaus J.W. Blood gas calculator // J.Appl. Physiol. — 1966. — 21, № 5. — P. 1108—1116.

Гродн. мед. ин-т М-ва здравоохранения
Республики Беларусь

Материал поступил
в редакцию 27.12.93