

*В. П. ТЕРЕНТЬЕВ<sup>1</sup>, Н. В. ХОДАРЕВ<sup>2</sup>, Н. Л. ЖЕМЧУЖНОВА<sup>2</sup>, Е. В. ОЛЕМПИЕВА<sup>2</sup>,  
М. Н. ЖИНКО<sup>2</sup>, Б. Е. ЕВТУШЕНКО<sup>2</sup>, С. Г. НЕШИН<sup>2</sup>*

## **ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ВОДЫ И ГАЗОТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ КРОВИ ПОСЛЕ ОБЩЕЙ ВОЗДУШНОЙ КРИОТЕРАПИИ**

*<sup>1</sup>Кафедра внутренних болезней № 1 ГОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет»,  
Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29;*

*<sup>2</sup>медико-санитарная часть УФСБ России по Ростовской области,  
Россия, 344082, г. Ростов-на-Дону, ул. Б. Садовая, 31,  
тел. 8-919-8803319. E-mail: olempieva@yandex.ru*

Проведено клинико-лабораторное исследование влияния общей воздушной криотерапии на параметры кислородного обеспечения крови и распределение фракций воды у практически здоровых лиц. Выявлено, что дозированные холодовые нагрузки носят тренировочный характер и сопровождаются изменением кислородтранспортной функции крови, направленной на стимуляцию модуляционного механизма адаптации, а также разобщение тканевого дыхания. При этом по мере длительности воздействия отмечается перераспределение форм воды с увеличением связанной фракции. Такой характер обменных процессов свидетельствуют об адаптивном влиянии дозированной холодовой нагрузки на реологические характеристики крови. Полученный фактический материал позволяет рекомендовать данный метод воздействия с целью повышения уровня выносливости и сопротивляемости к гипоксическому фактору в условиях низких температур.

*Ключевые слова:* криотерапия, кровь, газотранспортная функция, фракции воды.

**V. P. TERENTIEV<sup>1</sup>, N. V. HODAREV<sup>2</sup>, N. L. GHEMCHYGHNOVA<sup>2</sup>,  
E. V. OLEMPIEVA<sup>2</sup>, M. N. GHINKO<sup>2</sup>, B. E. EVTUSHENKO<sup>2</sup>, S. G. NESHIN<sup>2</sup>**

### **THE CHANGING OF THE MAINTENANCE OF VARIOUS FORMS OF WATER AND GAS-TRANSPORT FUNCTION OF BLOOD AFTER THE GENERAL AIR CRYOTHERAPY**

*<sup>1</sup>SEE HPE «Rostov state medical university»,  
Russia, 344022, Rostov-on-Don, Nachichevansky str., 29;*

*<sup>2</sup>hospital medical military Federal secret burro,  
Russia, 344082, Rostov-on-Don., st. B. Sadovay, 31, tel. 8-919-8803319. E-mail: olempieva@yandex.ru*

It is spent the clinical-laboratory research of influence by the general air cryotherapy on parameters of oxygen maintenance of the blood and distribution of fraction of the water at almost healthy faces. It is revealed that dosed out of cold loadings have the training character and attending by oxygen transport function of the blood directed on modulation stimulation of the mechanism of adaptation, and also dissociation of the fabric breath which are accompanied by changing. In these process of the duration of influence it is marked the redistribution of the water forms with increasing in the connected fraction. Such character of the exchanging processes testifies of adaptation of the influence dosed out of cold loadings on blood characteristics. The received actual material allows to recommend to give the method of influence for the purpose of increasing the level of endurance and resistibility to the hypoxemic factor in the conditions of low temperatures.

*Key words:* cryotherapy, blood, gas-transport function, fraction of the water.

#### **Введение**

На сегодняшний день изменение температурного режима осуществляется с помощью многочисленных методов физического воздействия на организм человека, в частности, все большее внимание исследователей различных специальностей привлекает воздушная криотерапия – новый метод немедикаментозного воздействия. Под общей криотерапией понимают воздействие на организм человека жидкими или газообразными хладагентами для отведения тепла от всей поверхности тела человека в той мере, чтобы температура тканей снижалась в пределах их криоустойчивости и не происходило значимых сдвигов терморегуляции организма. Общая воздушная криотерапия – это кратковременное охлаждение всей поверхности тела ламинарным потоком сухого воздуха с температурой от  $-60^{\circ}\text{C}$  до  $-120^{\circ}\text{C}$  [9]. Наиболее часто упоминаемые эффекты холода – снятие боли, уменьшение воспалительного отека, по-

вышение капиллярного кровотока и ликвидация мышечного спазма. Показано, что результат холодового воздействия зависит от характера общей и местной реактивности организма. В основе механизмов изменения реактивности лежит система обратной связи, которая компенсирует отрицательное температурное воздействие за счет противоположно направленной реакции [2]. Общая воздушная криотерапия является идеальным средством тренинга физиологических резервов и повышения сопротивляемости стрессам и физическим перегрузкам. Её реабилитационное воздействие основано прежде всего на восстановлении гомеостатических механизмов [10].

Известно, что при увеличении холодовой нагрузки под влиянием воздушной ванны увеличивается количество потребленного кислорода. Эффективность функционирования системы обеспечения тканей кислородом во многом определяется состоянием

тканевой перфузии. Сама тканевая перфузия зависит от целого ряда показателей: насосной функции сердца, состояния сосудов микроциркуляции и реологических свойств крови. Нарушение водно-электролитного гомеостаза является одним из важнейших неспецифических проявлений повреждения [2, 11, 13], а в основе распределения электролитов и воды ведущая роль принадлежит структурно-функциональной целостности мембран клеток. На сегодняшний день нет единого мнения о механизме формирования ответа гемодинамики у практически здоровых лиц после общей воздушной криотерапии.

Гипоксическое состояние, возникающее в ответ на низкотемпературный стресс, сопровождается дефицитом энергии, способствует повышению сосудистой проницаемости и активирует транспортные системы [12, 14]. Можно полагать, что в перераспределении электролитов и воды при развитии стресс-реакции независимо от причин важное значение имеет нарушение механизмов транскапиллярного обмена. Очевидно, изменение температурного режима сопровождается переходом функционирования гомеостатических систем на новый уровень метаболического обеспечения. Однако в доступной литературе отсутствуют данные, касающиеся влияния низких температур на молекулярные механизмы адаптации системы крови.

В этой связи целью данного исследования явилась оценка параметров водного гомеостаза крови, а также особенностей функционирования эритроцитов до и после воздействия низких температур.

### Методика исследования

Нами было проведено исследование на практически здоровых добровольцах-мужчинах в возрасте от 24 до 33 лет. Дизайн исследования состоял из двух фаз: первая – до воздействия криосауны (контрольная группа), вторая – после воздействия (клиническая группа). Добровольцы получали курс криотерапии по методике, включавшей нахождение в предварительной камере при  $t -60^{\circ}\text{C}$  в течение 30 секунд, затем в основной камере при  $t -110-120^{\circ}\text{C}$  в течение 180 секунд. Процедуры отпускались повторно с интервалом 20 минут, ежедневно, в течение 15 дней. Группы обследуемых были сформированы согласно правилам проведения клинических испытаний (GSP) после получения информированного согласия. Забор крови осуществлялся на 1, 8 и 15-е сутки от начала воздействия.

Материалом для исследования выбраны цельная кровь, эритроциты и суспензия митохондрий лейкоцитов венозной крови, взятые натошак из локтевой вены. Общую, свободную и связанную воду цельной крови определяли объемно-весовым дилатометрическим методом Р. А. Сахановой в описании З. И. Микашинович [7], результаты выражали в %. Для достижения поставленной цели в эритроцитах венозной крови определяли концентрацию 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ) неэнзиматическим методом по Dusse в описании И. С. Лугановой [5], пировиноградной кислоты (ПВК) по М. П. Бабаскину [1], молочной кислоты по В. В. Меньшикову [6]. Активность цитохромоксидазы (ЦХО) плазмы – по Р. С. Кривченковой [4] и сукцинатдегидрогеназы (СДГ) по методу З. И. Микашинович [8]. Для определения активности СДГ и ЦХО использовали суспензию митохондрий (400–500 мг белка в 0,2 мл суспензии). Митохондрии клеток выделяли дифференциальным

центрифугированием после гомогенизации на холоде в солевом растворе (0,15 М KCl и 10 мМ трис-HCl). Для удаления ядерной фракции гомогенаты центрифугировали 15 мин при 640 g. Фракцию митохондрий выделяли в течение 25 мин при 20 000 g с двукратным промыванием средой выделения.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили согласно общепринятым методам с определением средней арифметической, ошибки средней с использованием программы «STADIA» версия 6.0 [3]. О достоверности показателей контрольной и клинических групп судили по величине  $t$ -критерия Стьюдента после проверки распределения на нормальность. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и обсуждение

В ходе проведенного исследования нами установлено, что после общей воздушной криотерапии отмечается рост концентрации общей воды в цельной крови. Так, в первые сутки после воздействия концентрация общей воды увеличивается на 13,0% ( $p < 0,05$ ), к 8-м суткам – на 13,4% ( $p < 0,05$ ), к 15-м суткам – на 20,1% ( $p < 0,05$ ). Однако такие изменения обусловлены неоднозначным перераспределением свободной и связанной воды цельной крови относительно контрольной группы. Так, нами зарегистрировано значимое увеличение связанной воды: на 13,1% ( $p < 0,05$ ), 13,4% ( $p < 0,05$ ) и 20,8% ( $p < 0,05$ ) соответственно срокам воздействия. При этом концентрация свободной фракции, напротив, достоверно снижается: на 27,7% ( $p < 0,05$ ), 22,3% ( $p < 0,05$ ) и 50,1% ( $p < 0,05$ ) соответственно.

Полученные данные подтверждаются снижением коэффициента «свободная/связанная вода» по мере длительности воздействия на 36,4% ( $p < 0,05$ ), 32,5% ( $p < 0,05$ ), 59,7% ( $p < 0,05$ ). По-видимому, данные изменения можно считать компенсаторно-приспособительной реакцией, направленной на улучшение реологических свойств крови (табл. 1).

Выявлено, что в первые сутки имеет место максимальный рост концентрации аллостерического модулятора сродства гемоглобина к кислороду: концентрация 2,3-ДФГ увеличивается на 891,2% ( $p < 0,001$ ) относительно контроля. В ходе дальнейших исследований отмечается менее выраженное по сравнению с первыми сутками увеличение концентрации данного метаболита. Так, к 8-м суткам имеет место рост 2,3-ДФГ на 559,7% ( $p < 0,005$ ), а к 15-м – на 552,9% ( $p < 0,005$ ) относительно той же группы (табл. 2). Полученные результаты свидетельствуют о выраженной гипоксии, что может быть проявлением компенсаторно-приспособительной реакции, направленной на стимуляцию процессов снижения сродства гемоглобина к кислороду, что приводит к улучшению доставки кислорода к органам и тканям и является экстренным, «аварийным» механизмом адаптации к гипоксии. Такой характер изменения уровня 2,3-ДФГ является выражением «надёжности» адаптационных механизмов, связанных с повышением эффективности функции системы транспорта и утилизации кислорода, а также гарантом сохранения структурно-функциональной целостности эритроцитов [8].

Способность клеток утилизировать доставляемый молекулярный кислород мы оценивали по изменению количества субстратов углеводного обмена в эритро-

цитах, что может быть использовано для оценки устойчивости организма к низким температурам.

В частности, отмечается незначительное увеличение концентрации ПВК на 16,1% ( $p < 0,05$ ) в первые сутки воздействия при одновременном более значимом росте концентрации молочной кислоты на 22,7% ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы. Принимая во внимание литературные данные [8] о влиянии ПВК на газотранспортную функцию эритроцитов, обеспечивающую рост количества 2,3-ДФГ и улучшающие процессы микроциркуляции, очевидно, что полученные результаты можно считать адаптационно-приспособительным механизмом эритроцитов, направленным на оптимизацию процессов оксигенации тканей в первые сутки возникновения гипоксии. К 8-м суткам проведения клинических испытаний нами не было зарегистрировано статистически значимых отличий концентрации ПВК, тогда как концентрация молочной кислоты продолжала достоверно повышаться на 43,9% ( $p < 0,05$ ) относительно той же группы. Очевидно, что по мере тренировочного воздействия низких температур имеет место усиление гипоксии, что документируется высокой концентрацией аллоsterического модулятора сродства гемоглобина к кислороду. Дальнейшее воздействие характеризуется выраженным снижением концентрации ПВК на 20,9% ( $p < 0,05$ ) на фоне одновременного более значимого роста концентрации молочной кислоты на 91,5% ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует о закреплении перехода метаболического обеспечения клеток крови на анаэробный путь метаболизма. Очевидно, физиологическое значение возникающего метаболического лактатацидоза и усиление гликолитической оксидоредукции сводятся к тому, что включается эффект Бора, позволяющий дополнительно регулировать сродство гемоглобина к кислороду в условиях выраженной гипоксии. Кроме того, можно полагать, что в этих условиях имеет место усиление процессов восстановления метгемоглобина в гемоглобин, что служит специфическим для эритроцитов механизмом защиты от воздействия активных форм кислорода в условиях кислородного голодания клеток.

Поскольку снабжение митохондрий кислородом является лимитирующим звеном в процессах теплопродукции, важное значение для поддержания адекватной терморегуляции организма в условиях низкотемпературного воздействия приобретает активация анаэробного распада глюкозы. Следствием нарушенного снабжения тканей и органов кислородом является дисфункция митохондрий, для которой характерна последовательность фазных изменений активности митохондриальных ферментных комплексов, приводящая к подавлению процессов аэробного синтеза энергии, энергозависимых функций и метаболизма клетки. Митохондриальные нарушения при гипоксии коррелируют с фазными изменениями концентрации различных митохондриальных и немитохондриальных компонентов, которые предшествуют многим функционально-метаболическим нарушениям жизнедеятельности клетки. По-видимому, формирующийся метаболический ацидоз нарушает работу основного пути выведения кальция – закрываются mPT-поры, что приводит к перегрузке митохондрий кальцием, снижению трансмембранного электрохимического градиента внутренней мембраны митохондрий и, как следствие, уменьшению синтеза АТФ.

Для оценки уровня компенсации гипоксии мы исследовали активность СДГ – второго комплекса и ЦХО – терминального участка митохондриальной дыхательной цепи переноса электронов. В ходе работы было установлено, что активность СДГ в первые сутки воздействия увеличилась на 42,5% ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы. При этом активность ЦХО не имела статистически значимых отличий от показателей контрольной группы. Очевидно, что в первые сутки отмечается формирование неспецифической защитной реакции не адаптированных к гипоксии клеток в виде активации начального участка дыхательной цепи переноса электронов, направленной на стимуляцию процессов разобщения окислительного фосфорилирования и рассеивания энергии в виде тепла. К 8-м суткам нами зарегистрировано более выраженное

Таблица 1

### Распределение различных форм воды крови до и после воздействия общей воздушной криотерапии ( $M \pm X$ )

Показатель	Контрольная группа (до воздействия), n=30	Клиническая группа (после воздействия), n=30		
		1-е сутки	8-е сутки	15-е сутки
Общая вода крови, %	62,00±3,1	70,09±2,8 P<0,05	70,28±2,78 P<0,05	74,88±2,99 P<0,05
Свободная вода крови, %	47,85±2,21	34,6±1,33 P<0,05	37,2±1,59 P>0,05	23,9±0,72 P<0,05
Связанная вода крови, %	61,96±2,95	70,06±2,8 P<0,05	70,24±2,48 P<0,05	74,86±2,67 P<0,05
Коэффициент «свободная/связанная вода»	0,77±0,04	0,49±0,02 P>0,05	0,52±0,02 P<0,05	0,31±0,015 P<0,05

Примечание: P – степень достоверности относительно контрольной группы.

### Параметры кислородтранспортной функции крови до и после воздействия общей воздушной криотерапии (M±X)

Показатель	Контрольная группа (до воздействия) n=30	Клиническая группа (после воздействия) n=30		
		1-е сутки	8-е сутки	15-е сутки
Дизайн исследования				
Концентрация 2,3-дифосфоглицерата, моль/л	2,51±0,11	24,88±1,57 P<0,001	16,56±1,13 P<0,005	16,39±1,12 P<0,005
Концентрация пировиноградной кислоты, ммоль/л	0,353±0,014	0,410±0,03 P<0,05	0,358±0,014 P>0,05	0,279±0,013 P<0,05
Концентрация молочной кислоты, ммоль/л	4,23±0,21	5,19±0,21 P<0,05	6,09±0,24 P<0,05	8,10±0,24 P<0,05
Активность цитохромоксидазы, мкмоль/мг час	79,75±2,39	77,26±3,11 P>0,05	61,53±1,84 P<0,05	64,31±2,57 P<0,05
Активность сукцинатдегидрогеназы, нмоль/мг час	268,03±10,72	381,9±11,4 P<0,05	493,23±19,5 P<0,05	527,2±21,1 P<0,05

**Примечание:** P – степень достоверности относительно контрольной группы.

увеличение активности СДГ – на 84,02% (p<0,05) – на фоне угнетения активности ЦХО – на 22,85% (p<0,05) относительно той же группы. Такие изменения свидетельствуют о закреплении данной адаптивной реакции клеток крови и повышении их функционально-метаболической активности. По мере увеличения холодового воздействия к 15-м суткам отмечается более выраженная активация СДГ – на 96,7% (p<0,05) при достоверном угнетении активности ЦХО – на 19,36% (p<0,05) относительно той же группы. Можно полагать, что нарастающее воздействие холодового стресса обеспечивает развитие компенсаторно-приспособительных реакций в виде разобщения тканевого дыхания и сопровождается перестройкой не только процессов биологического окисления, но и работы энергопродуцирующих циклов, что документируется максимальным снижением к 15-м суткам величины коэффициента «свободная/связанная вода».

Проведенное исследование свидетельствует о том, что развитие острого холодового стресса сопровождается стимуляцией адаптивных реакций, направленных на усиление процессов разобщения окислительного фосфорилирования, а основным механизмом синтеза энергии является субстратное фосфорилирование. Данные реакции свидетельствуют о формировании модуляционного типа адаптации и характеризуются усилением процессов анаэробного гликолиза, сочетающихся с ростом активности 2,3-дифосфоглицератмутазы. Полученные данные убедительно свидетельствуют об адаптивном влиянии дозированной холодовой нагрузки на реологические характеристики крови. Подобный адаптивный метод немедикаментозного воздействия может быть рекомендован для профилактики заболеваний с нарушением микроциркуляторного русла, а также с целью повышения уровня выносливости и сопротивляемости к гипоксическому фактору в условиях низких температур, так как дозозависимый холодовой стресс носит тренировочный характер не только для органов и систем, но и для клеток крови.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Бабаскин М. П.* Способ определения пировиноградной кислоты в крови. А. С. № 877436. СССР: Заявка 13.02.80, № 2877502/28-13, опубликовано 30.10.81. МКИ G №33/52.
2. *Баранов А. Ю., Кидалов В. Н.* Лечение холодом. Криомедицина. – СПб, 1999. – С. 272.
3. *Кулайчев А. П.* Методы и средства анализа данных в среде Windows Stadia 6.0. – М., 1996. – С. 257.
4. *Кривченкова Р. С.* Современные методы в биохимии. – М., 1977. – С. 47–49.
5. *Луганова И. С., Блинов М. Н.* Определение 2,3-ДФГ неэнтиматическим методом и АТФ в эритроцитах больных хроническим лимфолейкозом // Лабораторное дело. – 1975. – № 7. – С. 652–654.
6. *Меньшиков В. В.* Справочник. Лабораторные методы исследования в клинике. – М., 1987. – С. 240.
7. *Микашинович З. И., Саркисян О. Г., Коваленко Т. Д.* Состояние различных форм воды и ферментов антиоксидантной защиты в эритроцитах крови у женщин, больных миомой матки // Вестник РУДН. – 2008. – № 8. – С. 677–680.
8. *Микашинович З. И., Олемпиева Е. В., Шлык С. В. и др.* Метаболические аспекты внутриутробной гипоксии плода при сердечно-сосудистой патологии у беременных. – Ростов-на-Дону, 2008. – С. 158.
9. *Понамаренко Г. Н., Улащик В. С., Zubовский Д. К.* Спортивная физиотерапия. – СПб, 2009. – С. 318.
10. *Портнов В. В.* Общая и локальная криотерапия. – М., 2008. – С. 60.
11. *Хейтц У., Горн М.* Водно-электролитный и кислотно-основной баланс. – М.: БИНОМ, 2009. – С. 359.
12. *Boulant J. A.* Hypothalamic neurons regulating body temperature. In: APS handbook of physiology. Eds M. J. Fregly, C. M. Blatteis. – N. Y. Oxford University Press. – 1996.
13. *Boutillier R. G.* Mechanisms of cell survival in hypoxia and hyperthermia // J. exp. biol. – 2001. – Vol. 204. – P. 3171–3181.
14. *Lenaz G., D'Aurelio M., Marlo Pich M. et al.* Mitochondrial bioenergetics in aging // Biochem. biophys. acta. – 2000. – Vol. 1459 (2–3). – P. 3997–3404.

Поступила 09.03.2011