

УДК 591.111.2

А. Г. Загороднева, В. Я. Березовський

ЗМІНИ ГЕМОГЛОБІНІВ ПРИ АДАПТАЦІЇ ДО УМОВ ВИСОКОГІР'Я

Сучасні методичні можливості дозволяють визначати не тільки кількісні, але й якісні зміни гемоглобінів при зовнішніх та внутрішніх впливах. З допомогою електрофорезу можна виділити від двох до п'яти фракцій гемоглобінів [1, 3, 5, 6]; хроматографічно гемоглобіни розділяють на шість і більше фракцій [2, 9, 12]. Показано, що в процесі адаптації до гіпоксії змінюється електрофоретична рухливість фракції гемоглобінів [3, 7, 8, 10, 11].

Електрофоретичне розділення білків ґрунтується на взаємодії електричного заряду молекули, її маси і напруженості електричного поля. В зв'язку з тим, що співвідношення заряд — маса у різних молекул неоднозначні, при електрофоретичній розгонці фракції білків виявляються гетерогенними. Для вивчення фізико-хімічних властивостей молекули білка може бути використана методика дифузного висолювання білків [4], яка полягає в тому, що різні за своїми властивостями молекули білка висолюються при певній концентрації сірчанокислового амонію. Цю методику ми застосовували для вивчення змін гемоглобінів крові в процесі адаптації до умов високогір'я.

Методика досліджень

Спостереження за змінами гемоглобінів крові проведені на 18 особах віком від 20 до 40 років у Києві та в гірських умовах (в районі Ельбрусу) після підйомів на висоти 2200, 4200, 4800 і 5600 м над рівнем моря. Порції венозної крові об'ємом 1—2 мл одержували пункцією літкової вени. Відмиті та осаджені центрифугуванням еритроцити руйнувалися додаванням дозованого об'єму дистильованої води. Аналіз змін гемоглобінів проводився за методом дифузного висолювання [4]. Для цього в ряд пластмасових стаканчиків, об'ємом 100 мл, наливають по 9,5 мл розчину сірчанокислового амонію зростаючої концентрації від 0 до 95%. Розріджування проводять насиченим розчином хлористого натрію. На сольові розчини крізь тонку голку нашаровують по 0,5 мл розчину досліджуваного білка. Розчин білка тонким шаром розтікається по поверхні більш щільного сольового розчину. В такому вигляді розчини закривають і зберігають протягом 60 хв на антивібраційній основі при температурі 20—21° С. Через поверхню розділу шарів відбувається дифузія розчину, і білкові молекули дегідратуються. Внаслідок цього у всьому об'ємі нашарованого розчину висолюються молекули білків, і оптична густина розчину змінюється. Різні білки висолюються при певному ступені насичення сірчанокислового амонію. На фотокалориметрі ФЕК-М, заздалегідь відкаліброваному за розчином сироваткових білків певної концентрації, реєструється ступінь світлопропускання досліджуваних розчинів. Крива дифузного висолювання має дві калібрувальні осі: вертикальна вісь показує концентрацію білків (%B), горизонтальна — якісний склад білкової суміші і значення концентрації висолювача (%V). Отже, дифузне висолювання дає змогу одночасно реєструвати кількісний та якісний склад білків.

Для того, щоб більш наочно виявити фракції гемоглобінів, на основі дослідної кривої викреслювали її похідну в координатах: $\Delta\% B / \Delta\% V = \% B$. Похідну криву будували за арифметичною різницею збільшення приросту кривої між 2% інтервалом насичення висолювача. Цю різницю наносили на графік в середині кожного інтервалу.

Описуючи фракції гемоглобінів, багато авторів користуються критерієм процентного вмісту кожної фракції до загальної кількості гемоглобінів, яка приймається за 100%. В нашій роботі використано інший засіб — облік змін абсолютного вмісту гемоглобіну, який виражається в грам-процентах.

Результати досліджень та їх обговорення

Гемоглобіни крові практично здорової людини, проаналізовані методом дифузного висолювання, характеризуються висхідною нелінійною кривою (рис. 1), з якої видно, що межі висолювання гемоглобінів крові людини перебувають між 50 (порогова точка) і 80 (кінцева, критична точка) процентів насичення висолювання. Найявність пологих ділянок на

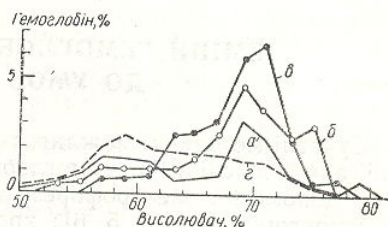
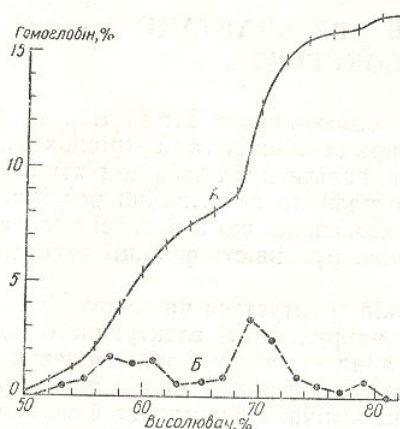


Рис. 2. Похідні криві гемоглобінів крові людини, яка добре адаптується до гіпоксії, в різні строки перебування на високогір'ї.

а — Київ-1, б — Терскол-1, в — Терскол-2, г — Київ-2.

Рис. 1. Крива висолювання гемоглобінів крові людини в нормі (А) та її похідна (Б).

По вертикалі — концентрація гемоглобіну в %, по горизонталі — концентрація висолювача, в % насичення.

кривій свідчить про те, що в розчині знаходиться гетерогенна суміш гемоглобінів. У верхній частині цієї кривої спостерігаються дві-три близькі за своїм значенням точки. За цими точками ми визначаємо сумарний процент гемоглобінів (по вертикалі), відповідно до калібрувального графіка.

Як видно з рис. 1, похідна крива є багатoverшинною. Концентрація окремих фракцій гемоглобінів (висота максимумів) не перевищує 2—3% білка, у деяких людей спостерігаються максимуми до 4%, при звичайній концентрації гемоглобінів у середньому $16,7 \pm 0,3\%$ (в таблиці дані, одержані на рівнині перед виходом в гори, наведені в графі «Київ-1»).

На другий-третій день перебування в горах на висоті 2200 м (селище Терскол — в таблиці дані наведені в графі «Терскол-1») у людей спостерігається значне збільшення сумарної кількості гемоглобінів з

Зміни гемоглобінів і гематокриту в крові людей при адаптації до умов високогір'я

Досліджувані показники	Київ-1	Терскол-1	Терскол-2	Київ-2	Київ-3
Гемоглобін, г %					
М	16,68	25,65	28,55	16,71	19,80
±m	0,32	0,64	0,63	0,56	0,44
p		< 0,002	< 0,002	> 0,05	< 0,002
Гематокрит					
М	40,1	42,7	44,6	43,0	44,4
±m	1,3	0,7	0,7	0,7	1,2
p		> 0,05	< 0,01	> 0,05	< 0,02

високою статистично вірогідно залишаються таким чином окремих фракцій зростає до 7—8% при загальній кон-

Після тижневого перебування на висоту 3700 м, а висоті люди знаходились на висоті 4800 та 5600 м (східна вершина) на вказаних висотах були зроблені аналізи к

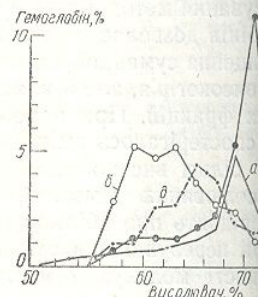


Рис. 3. Похідні криві гемоглобінів крові людини, яка добре адаптується до гіпоксії, в різні строки перебування на високогір'ї.

а — Київ-1, б — Терскол-1, в — Терскол-2, г — Київ-3.

Спостерігалось збільшення концентрації гемоглобінів висолювача, і межі висолювання їх перебувала в межах 50—80% насичення. Фракції гемоглобінів збільшились до 6,5—8,0% білка, а інші знизились до 2,0—3,0% білка. Висота максимумів знизилась на інших концентраціях висолювача.

В окремих випадках спостерігалось збільшення кількості гемоглобінів. Так, у двох з трьох людей на висоту 2200 м відбувалось збільшення сумарної кількості гемоглобінів до 4,5—5,0% гемоглобіну, а в інших — до 6,5—8,0%. Висота максимумів між 50 і 80% насичення не перевищувала 4% (рис. 2). Фракції гемоглобінів крові у цієї людини — 29,0%. Але у неї розподіл фракцій гемоглобінів не перевищував 4% (рис. 2). Особи відбувалось збільшення кількості гемоглобінів за рахунок збільшення кількості окремих фракцій. Ця людина погано адаптувалась до гіпоксії.

В гірських умовах люди експедиції повернулись до рівнини були зроблені аналізи. Концентрація гемоглобінів

високою статистично вірогідною різницею. Межі висолювання гемоглобінів залишаються такими ж, як і на рівнині (рис. 2 і 3). Концентрація окремих фракцій зростає до 4—5%, у деяких людей вони досягають 7—8% при загальній концентрації гемоглобінів $25,6 \pm 0,6\%$.

Після тижневого перебування в Терсколі, група обслідуваних піднялась на висоту 3700, а потім — на 4200 м над рівнем моря. На цій висоті люди знаходились на протязі двох тижнів і підіймались на висоти 4800 та 5600 м (східна вершина Ельбрусу). Через два тижні перебування на вказаних висотах люди повернулись у Терскол, де в той же день були зроблені аналізи крові (ці дані наведені в графі «Терскол-2»).

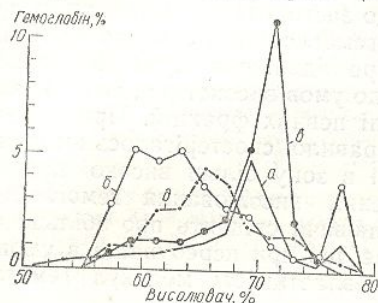


Рис. 3. Похідні криві гемоглобінів крові людини, яка добре адаптується до гіпоксії, в різні строки перебування на високогір'ї.
а — Київ-1, б — Терскол-1, в — Терскол-2, д — Київ-3.

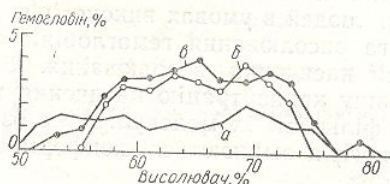


Рис. 4. Похідні криві гемоглобінів крові людини, яка погано адаптувалась до гіпоксії, в різні строки перебування на високогір'ї.
а — Київ-1, б — Терскол-1, в — Терскол-2.

Спостерігалось збільшення концентрації гемоглобінів у крові. Поріг висолювання гемоглобінів перемістився на більш високу концентрацію висолювача, і межі висолювання гемоглобінів звужились — зона висолювання їх перебувала між 54—80% насичення висолювача. Максимальна кількість гемоглобіну висолювалась на 68—70% насичення висолювача. Фракції гемоглобінів, що висолювались у зоні 68—70%, збільшились до 6,5—8,0%, а в деяких людей вони досягли 9—11%. Одночасно трохи знизилась концентрація фракції гемоглобінів, які висолювались на інших концентраціях насичення висолювача.

В окремих випадках спостерігались відхилення від згаданих закономірностей. Так, у двох з 18 обслідуваних, які погано переносили підйом на висоту, не відбувалось значного зростання фракцій гемоглобінів в зоні 68—70% насичення висолювача. Ці фракції у них не перевищували 4,5—5,0% гемоглобіну, а в одного з них крива залишилась розпливчастою, багатoverшинною: межі висолювання гемоглобінів розташовувались між 50 і 80% насичення висолювача, і концентрація окремих фракцій не перевищувала 4% (рис. 4). Характерно, що сумарна концентрація гемоглобінів крові у цієї особи була така ж, як і у інших обслідуваних — 29,0%. Але у неї в умовах високогір'я не спостерігалось перерозподілу фракцій гемоглобінів зі збільшенням фракції в зоні 68—70% насичення висолювача. Збільшення концентрації гемоглобінів у цієї особи відбувалось за рахунок рівномірного збільшення майже всіх фракцій. Ця людина погано перенесла підйом на вершину Ельбрусу.

В гірських умовах люди перебували на протязі місяця, і після цього експедиція повернулася до Києва. На другий-третій день після повернення були зроблені аналізи крові (ці дані наведені в графі «Київ-2»). Концентрація гемоглобінів у крові знизилась до норми. Межі висолю-

вання гемоглобінів розширились знову до тих точок, які були перед виходом в гори (50—80% насичення висолювача). Окремі фракції гемоглобінів не перевищували 2—3%, інколи спостерігались максимуми до 3—4%.

Наступне дослідження було проведено через місяць після повернення до Києва (ці дані наведені в графі «Київ-3»). В крові людей у цей час спостерігалось повторне статистично достовірне підвищення концентрації гемоглобінів. Похідна крива відрізнялась від спостережуваної перед виходом в гори, висота максимумів досягала 4—5%. Спостерігався повторний перерозподіл фракцій гемоглобінів крові.

Проведені дослідження показали, що застосування методики дифузного висолювання білків для вивчення гемоглобінів дозволяє не тільки підтвердити раніше встановлені факти про підвищення сумарної концентрації гемоглобінів крові при адаптації до умов високогір'я, але й виявити деякі якісні їх зміни в перерозподілі певних фракцій. При перебуванні людей в умовах високогір'я, як правило, спостерігалось зміщення порога висолювання гемоглобінів крові в зону більш високої концентрації насичення висолювання. Зміщення висолювання гемоглобінів на вищу концентрацію насичення висолювача свідчить про збільшення гідрофільності їх молекул. А це означає, що при перебуванні в умовах високогір'я змінюються конформаційні властивості молекул гемоглобінів.

Спостерігалось також збільшення концентрації фракції, яка висолювалась у зоні 68—70% насичення висолювача і одночасне зменшення фракцій в інших зонах насичення висолювача. Тобто, при перебуванні людей в умовах високогір'я та адаптації до гіпоксії відбувається перерозподіл фракцій гемоглобінів у крові.

В перші дні після повернення з гір на рівнину спостерігались зворотні зміни: поріг висолювання гемоглобінів зміщувався в зону меншого процента насичення висолювача, і знижувалась концентрація фракції гемоглобіну в зоні 68—70%. Очевидно, це можна пояснити реакцією організму на різку зміну умов середовища, в якому перебуває організм.

Слід підкреслити вторинне підвищення концентрації гемоглобінів крові зі зміною їх якісного складу ще через місяць після повернення з гір. Можливо, це один із проявів відставленої стимуляції дії гірських умов на організм людини.

Крім загальних кількісних та якісних змін гемоглобінів спостерігались певні індивідуальні зрушення у різних людей в процесі адаптації до умов високогір'я. Індивідуальні особливості полягали в тому, що у осіб, які погано переносили умови високогір'я відзначалось лише рівномірне збільшення концентрації гемоглобінів крові, але без перерозподілу їх фракцій.

Висновки

1. Методом дифузного висолювання показано, що при адаптації до нестачі кисню відбуваються зміни співвідношень різних фракцій гемоглобінів зі збільшенням гідрофільності їх молекул.

2. Через 30 днів після повернення на рівнину спостерігалось вторинне підвищення вмісту гемоглобінів в крові обслідуваних.

3. Показано істотні індивідуальні варіації в реакції гемоглобінів на перебування людини в умовах високогір'я, що відповідають загальному стану організму та його здатності ефективно пристосовуватись до нестачі кисню.

1. Березовський В. А., адаптации к гипоксии. — В 113.
2. Верболович П. А., У «Наука», 1967, 264.
3. Дударев В. П. Электр виях нормального и пониженной железы. — В сб.: Гор 4. Зеленський М. В. Ди 290.
5. Иржак Л. И. Гемоглобин
6. Рекун Г. М., Старод рив. — Укр. біохім. журн., 1
7. Сиротинин Н. Н. Изу к высокогорному климату связанных с кислородным высокогорья, Душанбе, 196
8. Сиротинин М. М. Гор 205—212.
9. Стародуб Н. Ф., Рек моглобина. Киев, «Наукова
10. Цукеркандль Э., По разнородность. — В кн.: Го
11. Шик Л. Л. (отв. ред.) Фи
12. Doležalova V., Вга с 429. 43.

Інститут фізіології ім. О. О. Б
АН УРСР, Київ

A. G. Za

CHANGES IN
TC

Changes in blood hemoglobin conditions were studied by the were in the region of Elbrus. 4800 and 5600 m above sea-level ratios of different hemoglobin molecules increases. A month after of hemoglobin concentration in hemoglobins reactions for high

The A. A. Bogomoletz Institute Academy of Sciences, Ukrainian

Література

1. Березовский В. А., Дударев В. П. Кислородное снабжение тканей при адаптации к гипоксии. — В сб.: Горы и здоровье, Киев, «Наукова думка», 1974, 98—113.
2. Верболович П. А., Утешев А. Б. Железо в животном организме. Алма-Ата, «Наука», 1967, 264.
3. Дударев В. П. Электрофоретическое исследование гемоглобина у крыс в условиях нормального и пониженного атмосферного давления при дисфункции щитовидной железы. — В сб.: Горы и здоровье, Киев, «Наукова думка», 1974, 113—117.
4. Зеленський М. В. Дифузне висолювання білків. Київ, Вид-во АН УРСР, 1959, 290.
5. Иржак Л. И. Гемоглобины и их свойства. М., «Наука», 1975, 240.
6. Рекун Г. М., Стародуб Н. Ф. Дослідження гетерогенності гемоглобіну щурів. — Укр. біохім. журн., 1969, 2, 130—137.
7. Сиротинин Н. Н. Изучение процесса адаптации к гипоксии и акклиматизации к высокогорному климату с целью использовать последний для лечения болезней, связанных с кислородным голоданием. — В сб.: Вопросы физиологии и патологии высокогорья, Душанбе, 1963, 62, 86—91.
8. Сиротинин М. М. Гори і червона кров. — Фізіол. журн. УРСР, 1970, XIV, 2, 205—212.
9. Стародуб Н. Ф., Рекун Г. М., Шурьян И. М. Радиационное поражение гемоглобина. Киев, «Наукова думка», 1976, 128.
10. Цукеркандль Э., Поллинг Л., Молекулярные болезни, эволюция и генная разнородность. — В кн.: Горизонты биохимии, М., 1964, 148—167.
11. Шик Л. Л. (отв. ред.) Физиология дыхания. Л., «Наука», 1973, 350.
12. Doležalova V., Brada L. Krevni bílkoviny krysy. — Českosl. Fisiol., 1967, 16, 5, 429. 43.

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця
АН УРСР, Київ

Надійшла до редакції
16.IV 1976 р.

A. G. Zagorodneva, V. A. Berezovskij

CHANGES IN HEMOGLOBINS WITH ADAPTATION
TO HIGH ALTITUDE CONDITIONS

Summary

Changes in blood hemoglobin of people during their adaptation to high mountain conditions were studied by the method of diffusion salting out. The people under study were in the region of Elbrus at the heights of 2200, 4200 for a month with ascension at 4800 and 5600 m above sea-level. It is shown that under high mountain conditions the ratios of different hemoglobin fractions change and hydrophilic nature of hemoglobin molecules increases. A month after a return to the conditions of a plain a secondary increase of hemoglobin concentration in blood is observed. There are also individual variations of hemoglobins reactions for high mountain conditions.

The A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev