

13. Лауэр Н. В., Колчинская А. З. О кислородном режиме организма.— В кн.: Кислородный режим организма и его регулирование: Материалы симпозиума. Киев: Наук. думка, 1966, с. 3—15.
14. Неговский В. А. Актуальные проблемы реаниматологии.— М.: Медицина, 1971.— 215 с.
15. Неговский В. А., Гурвич А. М., Золотокрылина Е. С. Постреанимационная болезнь.— М.: Медицина, 1979.— 383 с.
16. Низовцев В. П. Скрытая дыхательная недостаточность и ее моделирование.— М.: Медицина, 1978.— 272 с.
17. Astrup P., Jørgensen K., Engel K. The acid-base metabolism, a new approach.— *Lancet*, 1960, 1, N 7133, p. 1035—1039.
18. Barker S. B., Summerson W. H. The colorimetric determination of lactic acid in biological material.— *J. Biol. Chem.*, 1941, 138, N 3, p. 535—554.
19. Fegler G. Measurement of cardiac output in anesthetized animals by a thermo-dilution method.— *Quart. J. Exp. Physiol.*, 1954, 39, N 3, p. 153—164.
20. (Guyton A.). Гайтон А. Физиология кровообращения. Минутный объем сердца и его регуляция: Пер. с англ.— М.: Медицина, 1969.— 472 с.
21. Тодоров И. Клинические лабораторные исследования в педиатрии.— Рус. изд.— София: Медицина и физкультура, 1966.— 1039 с.
22. (Van Lier E. J., Stickney J. C.). Ван Лир Е., Стикней К. Гипоксия: Пер. с англ.— М.: Медицина, 1967.— 237 с.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 18.07.82

УДК 577.152.1:612:273.2

Г. В. Донченко, Ю. В. Хмелевский, И. В. Кузьменко,
А. И. Корницкая, Н. Б. Кахновер, О. Я. Барык, А. А. Свищук,
В. П. Маковецкий

ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В МИОКАРДЕ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

При гипоксических состояниях различного генеза уменьшено потребление кислорода тканями. Данные об изменении активности ферментов дыхательной цепи митохондрий при гипоксии разноречивы. В большинстве случаев адаптация к гипоксии сопровождается активацией ферментов дыхательной цепи митохондрий [1], что направлено на более полное использование тканями кислорода. Изменения активности ферментов сопровождаются вариациями числа митохондрий, изменением структуры их мембран [20]. При этом в миокарде изменяется содержание компонентов дыхательной цепи митохондрий. Сведения о содержании убухинона в тканях при гипоксии неоднозначны [15, 17].

При гипоксии в миокарде поддерживается более высокий уровень окислительных процессов, чем в других тканях, что свидетельствует о больших его компенсаторных возможностях. В некоторых тканях повышается активность системы, катализирующей образование липоперекисей, изменяется содержание липидных компонентов мембранных структур, что приводит к дестабилизации мембранных образований [13, 18].

Таким образом, при коррекции гипоксических состояний в системе мер, направленных на повышение резистентности и функциональной активности ткани миокарда, основное внимание следует уделять нормализации процессов окислительного фосфорилирования и перекисного окисления липидов. Одним из таких корригирующих факторов антигипоксантов является препарат витамина Е (α -токоферолаацетат), играющий важную роль в биоэнергетических процессах, стабилизации мембран и ингибировании перекисного окисления липидов [2]. Лечение витамином Е заболеваний, связанных с нарушением энергетического обмена и кислородной недостаточностью миокарда, все больше используется в клинике [9], хотя механизм действия препарата весьма далек от расшифровки. Участие витамина Е в биоэнергетике связано,

в значительной мере, с контролированием обмена и функционирования убихинона [4] — компонента дыхательной цепи митохондрий, играющего важную роль и в контролировании активности окислительно-восстановительных ферментов цепи транспорта электронов.

Мы изучали возникающие при кислородной недостаточности нарушения в содержании витамина Е и убихинона (КоQ) в миокарде, активности ряда убихион-зависимых ферментных систем, а также глутатионпероксидазной и глутатионредуктазной активностей при одновременном определении уровня SH-групп и АТФазной активности в митохондриях миокарда для выяснения возможного механизма защитного действия α -токоферола, его биологически активных производных и обоснования их практического применения как противогипоксических средств.

Методика. Исследования проведены на белых крысах-самцах с массой тела 160—180 г, содержащихся на обычном рационе вивария. Витамин Е (фармакопейный препарат) и его производные (α -токоферилхинон, его аналог с укороченной боковой цепью, и α -токоферилацетат с укороченной боковой цепью) вводили за 3 ч до «подъема» животных на условную высоту 11000 м над уровнем моря ($P=225$ гПа, время подъема — 4 мин). В ходе выполнения работы экспериментальным путем по тесту выживаемости животных были подобраны оптимальные дозы и способ введения витамина Е. Наиболее эффективной оказалась доза хроматографически чистого α -токоферилацетата фармакопейного, равная 25 мкг при внутривенном и 25—30 мкг внутримышечном введении, в расчете на 1 г массы тела животного. Производные витамина Е вводили в количестве, эквивалентном оптимальной дозе α -токоферилацетата фармакопейного. Электрокардиограмму снимали на электрокардиографе 2Т-02.

После 30 мин воздействия гипоксией животных быстро забивали декапитацией. Извлечение тканей, получение гомогенатов и митохондрий вели на холоду. Митохондрии из мышцы сердца выделяли общепринятым методом в 0,25 М сахарозе на 0,05 М трис-НСl буфере с 0,001 М ЭДТА. Содержание убихинона и витамина Е определяли как ранее [3], белка — по [19], сукцинат-убихинонредуктазную активность — по [21], NADH-убихинонредуктазную — по [12], Mg-зависимую АТФазную — по [10], содержание лактата и пирувата по [14, 16]. Результаты обрабатывали статистически [8] и считали достоверными при $p \leq 0,005$.

Результаты и обсуждение. Эффективность витамина Е и его производных как факторов, повышающих устойчивость организма к гипоксической гипоксии, оценивали по выживаемости крыс при острой гипоксической гипоксии. Полученные результаты показывают (табл. 1),

Т а б л и ц а 1. Показатель продолжительности жизни крыс (в мин) при острой гипоксии и после введения им α -токоферилацетата фармакопейного и его синтетических производных

Статистические показатели	Контроль	Дополнительные введения			
		Витамин Е	α -токоферилхинон короткоцепочечный	α -токоферилхинон длинноцепочечный	α -токоферилацетат короткоцепочечный
Внутривенное введение					
$M \pm m$ n	$24,0 \pm 1,2$ 8	$35,5 \pm 0,8$ 6	$33,1 \pm 2,5$ 8	$30,0 \pm 1,3$ 9	$38,6 \pm 0,8$ 9
Внутримышечное введение					
$M \pm m$ n	$25,1 \pm 0,7$ 44	$33,0 \pm 0,9$ 37	$34,0 \pm 0,8$ 44	$35,8 \pm 1,1$ 17	$35,4 \pm 0,8$ 56

что при внутривенном и внутримышечном способах введения все испытанные производные проявляют антигипоксическую активность, не уступающую витамину Е, хотя эффективнее других оказался α -токоферилацетат с укороченной боковой цепью. Последний подобно витамину Е, одновременно с повышением выживаемости животных заметно нормализовал ЭКГ и предупреждал развитие аритмии, наступающей при гипоксии.

В условиях наших опытов пребывание животных в барокамере в течение 30 мин вызывало повышение содержания витамина Е в гомо-

генате (в 1,42 раза) и митохондриях (в 1,43 раза) миокарда. При этом содержание убихинона практически не изменялось в гомогенате, повышаясь в 2 раза в митохондриях миокарда подопытных животных (рис. 1).

В связи с этим было сделано предположение, что повышение содержания убихинона в митохондриях миокарда крыс в условиях гипоксии связано с его внутриклеточным перераспределением в ткани миокарда.

Как показали дальнейшие исследования, в условиях гипоксии повышение содержания витамина Е в миокарде сопровождается одно-

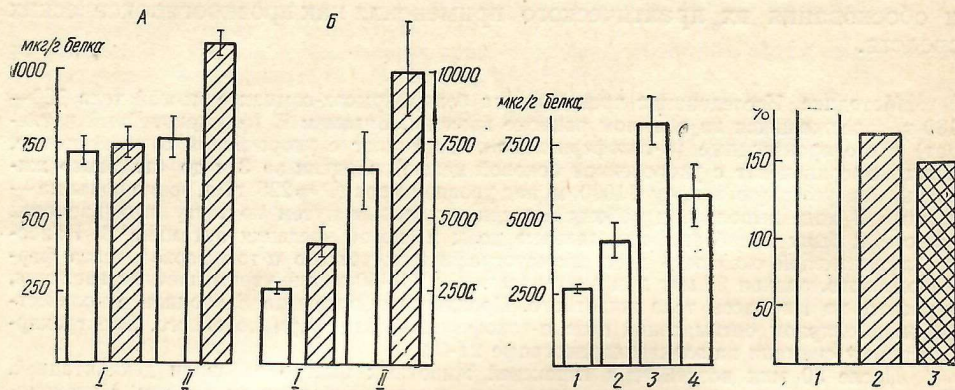


Рис. 1. Содержание убихинона (I) и витамина Е (II) в гомогенате (А) и митохондриях (Б) миокарда intactных крыс (белые столбики) и в условиях гипоксической гипоксии (заштрихованные столбики), в мкг на 1 г белка.

Рис. 2. Содержание убихинона в митохондриях миокарда intactных (1), подвергнутых гипоксическому воздействию животных (2), а также после предварительного введения им α -токоферилацетата фармакопейного (3) и его короткоцепочечного аналога (4), в мкг на 1 г белка.

Рис. 3. Влияние препаратов витамина Е на АТФазную активность митохондрий крыс в условиях острой гипоксии (за 100 % принята активность фермента intactных крыс). 1 — гипоксия, 2 — предварительное введение витамина Е фармакопейного + гипоксия, 3 — введение аналога витамина Е с укороченной боковой цепью + гипоксия.

временным снижением его в печени (на 26,3 %), скелетных мышцах (на 40,4 %) и почках (на 25 %). При этом содержание убихинона во всех исследованных тканях достоверно не изменяется.

В предыдущих исследованиях было показано, что повышение содержания витамина Е и убихинона в тканях сопровождается активацией процессов окислительного фосфорилирования [5]. Поэтому мы предположили, что возрастание содержания витамина Е и убихинона в митохондриях миокарда в условиях острой гипоксии является адаптивной реакцией организма, направленной на предупреждение снижения эффективности процессов тканевого дыхания в митохондриях.

В связи с этим в дальнейшем были изучены особенности изменения активности убихинон-зависимых ферментных систем в митохондриях миокарда при гипоксии, а также после предварительного введения животным α -токоферилацетата фармакопейного.

Предварительное внутримышечное введение витамина Е животным приводило к резкому росту содержания убихинона (рис. 2) в митохондриях как по сравнению с intactными животными, так и животными, подвергнутыми острому гипоксическому воздействию. По сравнению с последними содержание убихинона в митохондриях миокарда после предварительного введения α -токоферилацетата короткоцепочечного достоверно не изменялось, но превышало в 2,28 раза его уровень у intactных животных.

При изучении сукцинат-убихинонредуктазной активности митохондрий миокарда не обнаружено достоверных различий у животных всех групп (табл. 2). *NADH*-убихинон-редуктазная активность досто-

верно не изменялась в условиях острой гипоксии и после предварительного введения α -токоферилацетата короткоцепочного и снижалась при предварительном введении витамина Е (табл. 2).

Возможно, защитный эффект витамина Е при острой гипоксии заключается в обеспечении повышенного содержания α -токоферола и убихинона в митохондриях миокарда и устранении дефицита витамина Е в других тканях. С другой стороны, очевидно, защитный эффект витамина Е и его активного производного не связан непосредственно с активацией убихинон-зависимых оксидоредуктаз цепи транспорта электронов, а может, очевидно, достигаться за счет увеличения сопряжения окисления и фосфорилирования, а также повышения сродства переносчиков дыхательной цепи к кислороду [7].

Нами показано повышение в митохондриях миокарда крыс Mg-зависимой АТФазной активности (рис. 3) в условиях гипоксии, тогда как введение витамина Е и особенно его короткоцепочечного аналога приводило к снижению АТФазной активности. Возможно, такое действие витамина Е и его производного связано со стабилизацией мембран митохондрий. В таком случае снижение уровня АТФ и аэробного дыхания в условиях гипоксии должно активировать гликолиз.

Таблица 2. Активность сукцинат- и *NADH*-убихинон-редуктазных систем митохондрий миокарда крыс при гипоксии, а также после предварительного введения витамина Е или его короткоцепочечного аналога, в мкмоль на 1 мг белка за 1 мин (1 — активность без добавления, 2 — с добавлением убихинона-1)

Статистические показатели	Интактные животные		В условиях гипоксии					
			Контроль		Дополнительное введение			
					Витамина Е		α -токоферилацетата короткоцепочечного	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Сукцинат-убихинон-редуктазная система								
<i>M</i> ± <i>m</i>	30,16 ± 2,38	80,83 ± 3,42	36,42 ± 4,21	84,79 ± 6,79	29,53 ± 2,34	72,94 ± 2,34	34,13 ± 5,85	79,12 ± 5,12
<i>n</i>	6	6	6	6	5	5	5	5
<i>p</i>	>0,2	>0,5			>0,1	>0,1	>0,5	>0,5
<i>NADH</i> -убихинон-редуктазная система								
<i>M</i> ± <i>m</i>	4,11 ± 0,56	4,31 ± 0,42	4,86 ± 0,46	5,06 ± 0,31	3,41 ± 0,22	2,45 ± 0,37	4,11 ± 0,43	5,75 ± 0,70
<i>n</i>	6	6	5	5	7	6	5	5
<i>p</i>	>0,1	<0,02			<0,01	<0,001	>0,2	>0,2

Проведенные в этой связи эксперименты показали, что в условиях гипоксии в миокарде действительно повышается содержание пирувата и лактата на 296,5 и 102,1 % соответственно. Предварительное введение витамина Е и ацетата с укороченной боковой цепью снижает уровень пирувата в миокарде на 53,7 и 58,6 % соответственно. Это может свидетельствовать о возрастании эффективности процессов окислительного фосфорилирования.

Нарушения в энергетическом обмене митохондрий при гипоксии, как правило, сопровождаются изменениями липопротеидной структуры их мембран [18]. По данным Яхниной и сотр. [13], причиной подобных изменений может быть повышение перекисного окисления липидов при гипоксии. В связи с этим нами были изучены активность глутатионредуктазной и глутатионпероксидазной систем, контролирующих эти процессы. Оказалось, что в условиях гипоксии активность указанных ферментных систем в миокарде и эритроцитах достоверно не изменяется [6]. При этом не было обнаружено достоверных различий в содержании SH-групп [6], которые, как известно, входят в активные

центры изучаемых нами ферментных систем. Поэтому очевидно, что отмеченные нами изменения окислительно-восстановительных процессов в миокарде крыс при острой гипоксии не связаны с активацией процессов перекисного окисления.

Таким образом, одним из ведущих механизмов в развитии гипоксии миокарда является нарушение биоэнергетических процессов, а антигипоксический эффект витамина Е и его производных состоит в их коррекции путем обеспечения повышенного содержания α -токоферола и убикинона и восстановления функционирования *NADH*-убихинон-редуктазной системы в митохондриях миокарда. При этом возможно увеличение сопряжения окисления и фосфорилирования и повышение стабильности митохондриальных мембран митохондрий миокарда.

G. V. Donchenko, Yu. V. Khmelevsky, I. V. Kuzmenko, A. I. Kornitskaya,
N. B. Kakhnov, O. Ya. Baryk, A. A. Svishchuk, V. P. Makovetsky

REDOX PROCESSES IN RAT MYOCARDIUM WITH ACUTE HYPOXIA

Changes in the vitamin E and ubiquinone contents in the myocardium, activity of a series of ubiquinone-dependent enzymic systems as well as glutathione peroxidase and glutathione reductase activity with simultaneous determination of the SH-group and Mg-dependent ATPase level in the myocardium mitochondria were studied in case of acute hypoxia during conventional uplift of rats to an 11000 m height above the sea level with a view to comprehend a possible protective mechanism of α -tocopherol and its biologically active derivatives and to substantiate their practical application as antihypoxic agents. Disturbances in bioenergetic processes were found to be one of leading mechanisms in development of the myocardium hypoxia. The antihypoxic effect of vitamin E and its derivatives consisted in their correction by provision for an elevated content of ubiquinone and α -tocopherol and rehabilitation of the *NADH*-ubiquinone-reductase system functioning in the myocardium mitochondria.

Institute of Biochemistry, Academy of Sciences,
Ukrainian SSR, Kiev;

Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences,
Ukrainian SSR, Kiev

Список литературы

1. Барбашова З. И. Современное представление о перестройках клеточного химизма в процессе акклиматизации к гипоксии.— В кн.: Кислородная недостаточность. Киев: Наук. думка, 1963, с. 380—386.
2. Донченко Г. В. Витамин Е и процессы биологического окисления.— Витамин, 1975, вып. 8, с. 43—61.
3. Донченко Г. В., Коваленко В. Н., Забарная Е. Н. и др. Действие производных α -токоферола на содержание природных хинонов в тканях витамин Е-недостаточных крыс.— Биохимия, 1979, 44, № 5, с. 923—930.
4. Донченко Г. В., Кузьменко И. В., Коваленко В. Н. и др. Действие витамина Е и убикинона-9 на активность убикинонзависимых ферментных систем митохондрий печени крыс.— Укр. біохім. журн., 1980, 52, № 3, с. 353—358.
5. Донченко Г. В., Кузьменко И. В., Коваленко В. Н., Сидоренко Л. В. Определение содержания адениннуклеотидов и неорганического фосфата в печени крыс при Е-гиповитаминозе и введении α -токоферола и убикинона-9.— Там же, 1981, 53, № 3, с. 94—99.
6. Кяхнов Н. Б., Хмелевский Ю. В. Глютатионовая антиоксидантная система в миокарде и эритроцитах крыс при острых гипоксических поражениях сердца.— Там же, 1980, 52, № 5, с. 634—637.
7. Нейфах С. А. Молекулярно-генетические механизмы адаптации к гипоксии.— В кн.: Молекулярные аспекты адаптации к гипоксии. Киев: Наук. думка, 1979, с. 11—31.
8. Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований.— Патол. физиология и эксперим. терапия, 1960, № 4, с. 76—81.
9. Раскин И. М. Применение витамина Е в медицине.— Витамин, 1975, вып. 8, с. 122—128.
10. Скулачев В. П. Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи.— М.: Изд-во АН СССР, 1962.— 155 с.
11. Смелянская Г. Н., Чумаков В. Н., Захаревский А. С. Различия функционального состояния митохондрий мозга, сердца и печени белых крыс и особенности их реакций при гипоксии.— В кн.: Клеточное дыхание в норме и в условиях гипоксии. Горький, 1973, с. 151—152.
12. Тарасова Н. В., Иванова Г. И., Гололобов А. Д. Участие убикинона-9 в цепи транспорта электронов у *Candida guilliermondii*.— Микробиология, 1976, 45, № 3, с. 400—405.