

14. Pappu A. S., Fatterpakar P., Sreenivasan A. Succinate oxidation in rat liver mitochondria in vitamin E deficiency.— *Indian J. Biochem. and Biophys.*, 1980, 17, N 1, p. 48—50.
15. Porta E. A., Joun N. S., Nitla R. T. Effects of the type of dietary fat at two levels of vitamin E in Wistar male rats during development and aging.— *Mech. Ageing and Develop.*, 1980, 13, N 1, p. 1—39.
16. Sharaf A., Gomaa N. Hormonal properties of vitamin E and its synergism with gonadal hormones.— *Qual. plant. et mater. veg.*, 1972, 22, N 1, p. 91—98.
17. Stone W. L., Dratz E. A. Increased glutathione-S-transferase activity in antioxidant-deficient rats.— *Biochim. et biophys. acta*, 1980, 631, N 3, p. 503—506.

Харьков. ин-т обществ. питания;
Ин-т биологии Харьков. ун-та

Поступила 17.09.82

УДК 612.275.1

А. Н. Красюк

ИЗМЕНЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ У КРЫС С АНЕМИЕЙ, ВЫЗВАННОЙ АЛКИЛИРУЮЩИМИ ПРЕПАРАТАМИ, В УСЛОВИЯХ ГОРНОГО КЛИМАТА

Широко применяемые в медицине алкилирующие препараты, вызывая разобщение дыхания и окислительного фосфорилирования, оказывают цитотоксическое действие на бластомные клетки, клетки костного мозга, селезенки и др. Длительное применение алкилирующих препаратов или их передозировка могут приводить к возникновению гипопластической анемии [7, 8].

Небольшое снижение P_{O_2} в ткани головного мозга и др., возникающее при подъеме на высоту 2100 м, приводит к включению компенсаторных механизмов, активирует процессы регенерации клеток костного мозга, селезенки, печени и др. [3]; большое снижение P_{O_2} угнетает эти процессы [13].

Мы изучали некоторые особенности окислительно-восстановительных процессов в организме животных, подвергнутых действию алкилирующих препаратов, при последующей их адаптации в комплексе с введением биологически активных веществ в условиях Приэльбрусья на высоте 2100 м над уровнем моря.

Методика. Исследование выполнено на 372 крысах-самцах линии Вистар массой 170—200 г. Анемию вызывали введением миелосана в 1 % растворе крахмала в желудок с помощью зонда из расчета 20 мг/кг массы и тио-ТЭФа внутримышечно из расчета 5 мг/кг массы.

227 крыс с апемией, вызванной миелосаном и тио-ТЭФом (МТ) — группа А, исследовали на различных высотах (Киев — 96 м над уровнем моря, Пятигорск — 550 м и Терскол — 2100 м). 145 крысам с анемией вводили восстанавливающий комплекс (группа АВ), состоящий из галаскорбина и глютаминовой кислоты из расчета 20 мг/кг массы. Животных подгруппы А₁ предварительно адаптировали в течение 3 мес на высоте 2100 м (рис. 1), после чего производили затравку МТ (144 крысы). 41 крысу подгруппы А₂ поднимали на высоту 2100 м, на вторые сутки после подъема производили затравку МТ. 41 крысу подгруппы А₃ поднимали на высоту 2100 м через 11 сут после затравки предварительной адаптации на высоте 550 м. 38 крысам подгруппы АВ₁, адаптированным предварительно на высоте 2100 м и затем подвергнутым затравке МТ, вводили галаскорбин, начиная со вторых суток после затравки. 38 крыс подгруппы АВ₂ получали восстанавливающий комплекс со вторых суток после затравки на высоте 2100 м, и 64 крысы подгруппы АВ₃ получали восстанавливающий комплекс с 11 сут после затравки на высоте 2100 м. 30 крыс исследовано в качестве биологического контроля (К).

Основными тестами при исследовании были показатели периферической крови (количество эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов). Содержание молочной кислоты (МК) в периферической крови определяли по методу Умбрайт, пировиноградной кислоты (ПВК) — по методу Баркера — Соммерсета, активность лактат-дегидрогеназы (ЛДГ) в печени и селезенке — по методу Нейтельсона [2]. Изменение количества фермента ЛДГ в организме в целом определяли посредством подсчета гранул формазана в 50 лимфоцитах периферической крови по методу Нарциссова [6]. Исследования проводили на 9, 11 и 20 сут после затравки.

Дыхание гомогената печени и клеток селезенки изучали на полярографе LP-7 открытым платиновым электродом в модифицированной полярографической ячейке объемом 1 см³ при температуре 37 °C [1, 5, 13]. В качестве вспомогательного служил каломельный электрод. Для перемешивания использовали магнитную мешалку ММ-3. Средой выделения служил раствор Рингера с рН 7,4—7,5. Среда инкубации состояла из 145 ммоль CaCl₂; 6 ммоль KCl и 2 ммоль трис-буфера с рН 7,4—7,5.

Для выявления функциональных изменений дыхания ткани селезенки и печени использовали добавки CaCl₂—5 мкмоль, сукцината натрия—5 ммоль. В качестве акцептора служила добавка АДФ—200 мкмоль. Разобшиитель ДНФ вводили последовательно в количестве 100, 200 и 400 мкмоль. Для выявления амитал-резистентного дыхания производили добавку амитала натрия—2 мкмоль.

Вычисляли отношение скорости (V) потребления O₂ в присутствии CaCl₂ к $V_{\text{энд}}$; дыхательный коэффициент по сукцинату ($\text{ДК}_{\text{сукц}}$) вычисляли по соотношению $V_{\text{сукц}}/V_{\text{энд}}$. Рассчитывали соотношение скорости дыхания в присутствии акцептора к скорости дыхания в присутствии субстрата (V_3/V_4). Коэффициент транспорта электронов (КТ) вычисляли из соотношения $V_{\text{энд}}/V_{\text{ДНФ}}$. Учитывали соотношение скорости дыхания в присутствии разобшиителя к скорости дыхания в присутствии сукцината натрия.

Материал обработан статистически с применением стандартной программы для вычисления критерия Стьюдента на микрокалькуляторе «Электроника» Б 3-21.

Результаты. Необходимо отметить существенное влияние на количество эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов способа подъема на горные высоты крыс с МТ анемией (рис. 1). Самым низким оказалось содержание эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов на 20 сут адаптации у крыс подгруппы А₂, поднятых на высоту 2100 м и затравленных на вторые сутки после подъема. Как видно из представленных данных (рис. 1), предварительная адаптация на высоте 2100 м в течение 3 мес приводит к повышению устойчивости животных подгруппы А₁ к действию алкилирующих препаратов. Показатели периферической крови в подгруппе А₃ на 20 сут после затравки оказались выше по сравнению с наблюдаемыми в подгруппе А₂. Применение галаскорбина и глютаминовой кислоты со вторых суток после затравки приводит к некоторому снижению показателей периферической крови в подгруппе АВ₁. Введение галаскорбина и глютаминовой кислоты с 11 сут стимулирует восстановление периферической крови, в результате чего показатели красной крови к 20 сут в подгруппе АВ₃ достигают исходного уровня.

Анализируя изменение активности ЛДГ в ткани печени и селезенки, необходимо отметить тенденцию к повышению активности ЛДГ на 20 сут адаптации на высоте 2100 м; активность ЛДГ у крыс, находившихся на высоте 550 м, а также поднятых на высоту 2100 м на 11 сут после затравки, изменялась в меньшей степени.

Затравка крыс в первые дни после подъема на высоту 2100 м вызывала уменьшение количества гранул формазана в лимфоидных клетках периферической крови. К 20 сут происходило восстановление количества гранул формазана в лимфоцитах крыс всех групп до исходного уровня.

Изучая изменения МК и ПВК, необходимо отметить существенное увеличение МК при одновременном уменьшении содержания ПВК у крыс группы А на 9 сут после затравки на высоте 2100 м. В результате этого отношение МК/ПВК возросло в три раза по сравнению с исходной величиной и существенно возрос окислительно-восстановительный потенциал по молочной и пировиноградной кислоте (ОВП МК/ПВК). Так, если до затравки на уровне моря ОВП МК/ПВК у крыс в периферической крови составлял 244,7, то на 9 сут после затравки алкилирующими препаратами на высоте 2100 м—264,0.

Введение восстанавливающего комплекса крысам группы АВ на высоте 2100 м существенно снижало содержание МК и повышало содержание ПВК. В то же время на высоте 550 м отмечалась тенденция к уменьшению содержания МК и повышение ПВК, что особенно заметно на 20 сут после затравки.

Анализ изменения потребления кислорода гомогенатом печени и селезенки в полярографической ячейке дает представление о состоянии окислительно-восстановительных процессов в тканях этих органов

(рис. 2). Как видно из представленных кривых, характер эндогенного дыхания клеток печени претерпевает изменения у крыс группы А на 9 сут после затравки. У крыс группы АВ, получавших восстанавливающий комплекс, эти изменения выражены в меньшей степени, о чем свидетельствуют также соответствующие показатели скорости

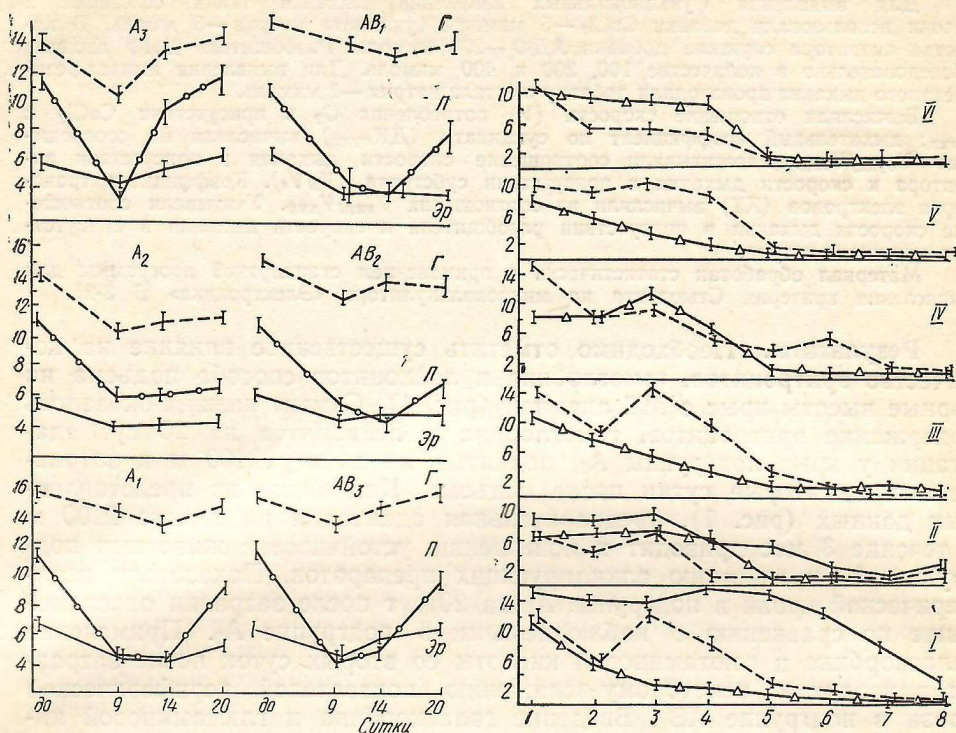


Рис. 1. Динамика изменения количества эритроцитов ($\text{Эр} \cdot 10^6/\text{мкл}$), лейкоцитов ($\text{Л} \cdot 10^3/\text{мкл}$) и гемоглобина ($\text{Г} \cdot 10^3 \text{ г/л}$) у крыс с гипопластической анемией, вызванной введением миелосана (20 мг/кг) и тио-ТЭФа (5 мг/кг).

A_1, AB_1, AB_2, AB_3 — крысы, адаптированные на высоте 2100 м в течение 3 мес до затравки; A_2 — поднятые на высоту 2100 м с равнины и затравленные на 2 сут; A_3 — затравленные на высоте 550 м и поднятые на высоту 2100 м на 11 сут после затравки. Крысы групп АВ получали: AB_1 — галаскорбин (20 мг/кг со вторых суток после затравки); AB_2 — галаскорбин и глутаминовую кислоту (по 20 мг/кг) в тот же срок; AB_3 — тот же комплекс с 11 сут после затравки.

Рис. 2. Динамика изменения скорости потребления кислорода (по вертикали) гомогенатом печени (I, II, V) и селезенки (II, IV, VI) в полярографической ячейке в нмоль O_2 (1 г/л мин) на 9 (I, II), 14 (III, IV) и 20 (V, VI) сут после затравки.

По горизонтали: 1 — эндогенное дыхание, 2 — после добавки 5 мкмоль CaCl_2 , 3 — 5 мкмоль сукцината натрия, 4 — 200 мкмоль АДФ, 5 — 100 мкмоль ДНФ, 6 — 200 мкмоль ДНФ, 7 — 400 мкмоль ДНФ, 8 — 2 мкмоль амиталя натрия. Сплошная линия — до затравки, прерывистая — крысы группы А, с треугольниками — крысы группы АВ.

дыхания, представленные в таблице. Статистически достоверная разница по этим показателям отмечается также при изучении скорости потребления кислорода гомогенатом селезенки у крыс группы АВ по сравнению с группой А. Дополнительное введение добавок сукцината натрия в полярографическую ячейку вызывало при этом существенные изменения скорости потребления кислорода гомогенатом селезенки и особенно печени крыс группы А на 9 и 14 сут после затравки на высоте 2100 м над уровнем моря (рис. 2). Как видно из этого рисунка, введение добавки сукцината натрия в дозе 5 мкмоль вызывает ингибирование дыхания, о чем свидетельствует также существенное уменьшение дыхательного коэффициента ($\text{ДК}_{\text{сукц}}$) у крыс группы А при изучении дыхания клеток селезенки (см. таблицу). В группе АВ та же добавка вызывала лишь тенденцию к повышению скорости потребления кислорода клетками селезенки на 9 и 14 сут после затравки. В то же время добавка АДФ изменяла соотношение скорости потребления кислорода при дыхании ткани печени и селезенки

(состояния 3 по отношению к состоянию 4п) у крыс групп А и АВ (см. таблицу).

Обсуждение результатов. Как видно из представленных данных, алкилирующие препараты миелосан и тио-ТЭФ в больших дозах тормозят окислительно-восстановительные процессы в клетках печени, селезенки и других органов, вызывая гипопластическую анемию и лейкопению [7, 8, 9]. Наши исследования показали, что предварительная адаптация на высоте 2100 м в течение 3 мес повышает устойчивость к действию алкилирующих препаратов. С другой стороны, гипоксия, возникающая при подъеме на высоту 2100 м, усугубляет

Изменение показателей скорости дыхания гомогената печени (П) и клеток селезенки (С) крыс с анемией в процессе комплексного лечения в условиях Приэльбрусья

Объект	n	Сроки после затравки	Показатели скорости дыхания ($M \pm m$)				
			$V_{CaCl_2}/V_{энд}$	$DK_{сумц}$	V_3/V_4	$V_{энд}/V_{ДНФ}$	$V_{ДНФ}/V_{сукц}$
А							
П	6	до	$0,80 \pm 0,05$	$0,76 \pm 0,20$	$1,38 \pm 0,18$	$1,06 \pm 0,14$	$1,27 \pm 0,15$
	5	9с	$0,53 \pm 0,07^*$	$0,35 \pm 0,07^*$	$0,61 \pm 0,06^*$	$8,27 \pm 0,35$	$0,37 \pm 0,08^*$
	6	14с	$0,73 \pm 0,05$	$0,43 \pm 0,06^*$	$0,73 \pm 0,06$	$6,64 \pm 0,25$	$0,36 \pm 0,04^*$
	4	20с	$0,60 \pm 0,06^*$	$0,45 \pm 0,06^*$	$0,65 \pm 0,06^*$	$6,36 \pm 0,06$	$0,35 \pm 0,06^*$
С	3	30с	$0,26 \pm 0,04^*$	$0,86 \pm 0,10$	$0,32 \pm 0,08^*$	$2,91 \pm 0,10^*$	$0,13 \pm 0,03^*$
	8	до	$1,08 \pm 0,11$	$1,37 \pm 0,11$	$0,92 \pm 0,12$	$1,23 \pm 0,12$	$0,75 \pm 0,09$
	13	9с	$1,10 \pm 0,06$	$1,11 \pm 0,10$	$0,92 \pm 0,10$	$12,11 \pm 0,04^*$	$0,17 \pm 0,03^*$
	7	14с	$0,95 \pm 0,09$	$1,37 \pm 0,12$	$0,84 \pm 0,15$	$5,36 \pm 0,08^*$	$0,34 \pm 0,08^*$
	10	20с	$1,00 \pm 0,04$	$0,85 \pm 0,10$	$0,88 \pm 0,09$	$11,85 \pm 0,08^*$	$0,50 \pm 0,56$
	3	30с	$1,28 \pm 0,42$	$0,35 \pm 0,16^*$	$1,19 \pm 0,40$	$3,46 \pm 0,30^*$	$1,50 \pm 0,29$
АВ							
П	5	9с	$0,70 \pm 0,13$	$1,24 \pm 0,06$	$0,58 \pm 0,06^*$	$3,60 \pm 0,14$	$0,22 \pm 0,03^*$
	5	14с	$0,63 \pm 0,10$	$1,05 \pm 0,08$	$0,55 \pm 0,07^*$	$1,69 \pm 0,04$	$0,22 \pm 0,04^*$
	4	20с	$0,89 \pm 0,12^*$	$1,13 \pm 0,09^*$	$0,78 \pm 0,09$	$1,15 \pm 0,05$	$0,22 \pm 0,04^*$
	6	30с	$0,59 \pm 0,09$	$1,90 \pm 0,08$	$0,27 \pm 0,07^*$	$2,94 \pm 0,20$	$0,22 \pm 0,19^*$
С	8	9с	$0,74 \pm 0,05$	$1,14 \pm 0,08$	$0,42 \pm 0,08$	$5,63 \pm 0,07^*$	$0,50 \pm 0,08$
	6	14с	$0,68 \pm 0,09$	$0,56 \pm 0,09^*$	$0,71 \pm 0,09^*$	$4,25 \pm 0,04$	$0,40 \pm 0,04^*$
	7	20с	$0,65 \pm 0,07^*$	$0,53 \pm 0,05^*$	$0,69 \pm 0,05^*$	$2,50 \pm 0,18$	$0,50 \pm 0,17$
	3	30с	$0,82 \pm 0,09$	$1,05 \pm 0,08$	$1,17 \pm 0,08$	$1,69 \pm 0,05$	$0,45 \pm 0,06^*$

* — $p > 95\%$.

нарушения окислительно-восстановительных процессов, вызванных действием алкилирующих препаратов. Избыточное повышение содержания МК, сопровождающееся увеличением соотношения МК/ПВК в три раза, свидетельствует о гипоксическом характере этого сдвига и обусловлено активацией гликолиза и нарушением процесса утилизации МК печенью у затравленных алкилирующими препаратами крыс на высоте 2100 м, а также изменением количества и активности фермента ЛДГ [8, 14, 15]. Об этом свидетельствует отмеченное в наших исследованиях уменьшение количества гранул формазана в лимфоцитах при подъеме на высоту у крыс группы А, в то время как долгосрочная адаптация на этой высоте способствует повышению количества ЛДГ в лимфоцитах периферической крови [12]. Так, адаптация в течение 20 сут приводит к повышению активности и количества ЛДГ, что отражается на состоянии окислительно-восстановительных процессов у здоровых и затравленных алкилирующими препаратами экспериментальных животных [4].

Подъем животных в период восстановления на высоту 2100 м, так же как и применение восстанавливающего комплекса (галаскорбина и глютаминовой кислоты) способствует восстановлению содержания эритроцитов в периферической крови.

Алкилирующие препараты приводят к ингибированию эндогенного дыхания в печени и селезенке, разобщают дыхание и окислитель-

ное фосфорилирование [8, 11]. Применение восстанавливающего комплекса в ранний период после затравки вызывает истощение эндогенных ресурсов и, по-видимому, сопряжено с активацией перекисного окисления [3].

Таким образом, гипоксическая гипоксия на высоте 2100 м углубляет ингибирование окислительно-восстановительных процессов, вызванное действием алкилирующих препаратов. Предварительная адаптация на этой высоте в течении 3 мес повышает устойчивость к действию алкилирующих препаратов.

Введение галаскорбина и глютаминовой кислоты в ранний период после затравки предупреждает нарастание концентрации молочной кислоты, но одновременно истощает эндогенные ресурсы в клетках печени и селезенки.

Сочетание адаптации на высоте 2100 м с введением галаскорбина и глютаминовой кислоты в период восстановления после повреждающего действия алкилирующих препаратов способствует активации окислительно-восстановительных процессов и нормализации состава клеток крови.

Список литературы

1. Березовский В. Я., Клименко О. С. Модифікована поліарографічна комірка.— Фізіол. журн. 1977, 23, № 2, с. 272—273.
2. Биохимические методы исследования в клинике.— М.: Медицина, 1969.— 652 с.
3. Красюк А. Н., Барабой В. А., Орел В. Э., Тацкий Ю. А. Некоторые механизмы восстановления кроветворения в условиях высокогорья при анемиях, вызванных действием алкилирующих препаратов.— Физиол. журн., 1980, 26, № 1, с. 110—115.
4. Мирзоева М. Э., Ахундова А. М., Алехина Л. С. Состояние некоторых окислительно-восстановительных ферментов у больных анемией различной этиологии. Механизмы нарушения и восстановления функций организма при некоторых патологических процессах.— В кн.: Материалы 3 Закавказ. науч. конф. патофизиологов. Тбилиси, 1972, с. 147—148.
5. Мохова Е. Н. Использование различных тканевых препаратов при полиарографическом изучении дыхания и сопряженных с ним реакций.— В кн.: Руководство по изучению биологического окисления полиарографическим методом. М.: Наука, 1974, с. 175—189.
6. Нарциссов Р. П. К методике цитохимического выявления некоторых дегидрогеназ клеток крови человека.— Цитология, 1968, 10, № 7, с. 909—913.
7. Позгосян А. С. Аплазия костного мозга у больных хроническим миелолейкозом после лечения миелосаном.— Пробл. гематологии и переливания крови, 1962, 4, № 77, с. 50—52.
8. Романова И. Н. О локализации разобщающего эффекта алкилирующих агентов в реакциях переноса энергии.— Биохимия, 1971, 36, № 6, с. 1119—1129.
9. Светличный И. С., Коваленко В. Л. К вопросу об осложнениях при миелосанотерапии.— Сов. медицина, 1960, 5, № 1, с. 44.
10. Тверской А. Л. Лактацидоз.— Анестезиология и реанимация, 1979, № 6, с. 56—57.
11. Усольцева Т. Я. Биоэнергетические процессы в печени и возможность воздействия на них.— Вopr. питания стареющего организма, 1971, 96, с. 133—137.
12. Шимкевич Л. Л., Копаяв Ю. А., Котовский Е. Ф., Королев В. В. Активность дегидрогеназ янтарной и молочной кислот в условиях хронической гипоксии.— Пробл. косм. биологии, 1968, 8, № 2, с. 222—230.
13. Ястребов А. П., Сегаль Н. К. Влияние острой гипоксии на показатели энергетического метаболизма липидных клеток.— Патол. физиология и эксперим. терапия, 1978, № 2, с. 65—67.
14. Altland P. D., Brubach H. F., Parker M. G., Higman B. Blood gases and acid base values of unanesthetized rats, exposed to hypoxia.— Amer. J. Physiol., 1967, 212, N 1, p. 142—148.
15. Lewis L. D., Porter U., Siesjo B. K. Arterial acid-base changes in unanesthetized rats in acute hypoxia.— Respirat. Physiol., 1973, 19, N 2, p. 312—321.

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

Поступила 11.11.82