

1. Агаджанян Н. А., Елфимов А. И. Функции организма в условиях гипоксии и гиперкапнии.— М.: Медицина, 1986.— 272 с.
2. Бобков Ю. Г. Антигипоксиканты и современная терапия патологических состояний // Фармакологическая коррекция гипоксических состояний: Тез докл. I Всесоюз. конф., янв. 1988, Москва.— Ижевск, 1988.— С. 14—15.
3. Борец В. М., Мирончик В. В., Артаева Л. П. Межвитаминовые отношения при ишемической болезни сердца и гипертонической болезни.— Минск: Наука и техника, 1983.— 206 с.
4. Гацура В. В. Метаболиты энергетического обмена и электронацепторные системы как антигипоксиканты // Фармакологическая коррекция гипоксических состояний: Тез. докл. I Всесоюз. конф., янв. 1988, Москва.— Ижевск, 1988.— С. 31—32.
5. Кондрашова М. Н., Григоренко Е. Б., Бабский А. М. Гомеостазирование физиологических функций на уровне митохондрий // Молекулярные механизмы клеточного гомеостаза.— Новосибирск: Наука, 1987.— С. 40—66.
6. Кондрашова М. Н. Метаболические состояния митохондрий при разных физиологических состояниях организма // Молекулярные механизмы и регуляция энергетического обмена: Материалы Всесоюз. симпозиума, июнь 1986, Пушкино.— 1987.— С. 140—163.
7. Кондрашова М. Н. Трансаминазный цикл окисления субстратов в митохондриях как естественный механизм адаптации к гипоксии // Фармакологическая коррекция гипоксических состояний: Тез. докл. I Всесоюз. конф., янв. 1988, Москва.— Ижевск, 1988.— С. 66—67.
8. Кишкович-Гапонова В. П., Буткевич Н. Д. Влияние комплекса витаминов на липидный спектр крови и показатели гемокоагуляции у больных ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью // Здравоохранение Белоруссии.— 1983.— № 6.— С. 31—34.
9. Малкин В. Б. Влияние на организм искусственной газовой среды космических кораблей и станций. 1. Барометрическое давление. Газовый состав // Основы космической биологии и медицины.— М.: Наука, 1975.— Т. 2, кн. 1.— С. 11—73.
10. Молекулярный механизм действия психотропных веществ // Уч. зап. Тартус. ун-та: Тр. по медицине / Ред. Л. Х. Алликметс.— Тарту, 1987.— Т. 766.— 166 с.
11. Островская Р. У., Трофимов С. С. Соотношение антигипоксического и ноотропного эффектов в спектре действия производных «шунта ГАМК» // Механизм действия и клиника производных гамма-аминомасляной кислоты.— Тарту, 1984.— С. 46—59. (Уч. зап. Тартус. ун-та: Тр. по медицине; Т. 687).
12. Розанов А. Я., Карпов Л. М. Стабильность, биохимическое изучение и фармакологический контроль поливитаминных ампулированных препаратов, содержащих тиамин, никотинамид, ФМН и пиридоксин // Актуальные проблемы витаминологии: Тез. Всесоюз. симпозиума, апр. 1978, Москва.— М., 1978.— Ч. 2.— С. 29—30.
13. Сепетлиев Д. Статистические методы в научных медицинских исследованиях.— М.: Медицина, 1968.— 419 с.
14. Сулимо-Самуйлло З. К. Гиперкапния и гипокания // Адаптация человека к экстремальным условиям среды.— М.: Наука, 1979.— С. 454—494.
15. Хмелевский Ю. В., Розанов В. А. Обмен витаминов при заболеваниях сердечно-сосудистой системы.— Киев: Здоров'я, 1975.— 150 с.

Одес. ун-т им. И. И. Мечникова
М-ва высш. и сред. спец. образования УССР

Материал поступил
в редакцию 11.06.89

УДК 616.12—005.4+612.1.616.152.27

В. П. Дударев, Л. Н. Строкач

Влияние гипоксии на активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах крыс

Физиологические реакции организма при гипоксии различного генеза тесно взаимосвязаны с биохимическими изменениями в системе крови, ее ферментативной активностью. По данным многих исследователей, в том числе и нашим [4], при развитии гипоксического состояния организма и адаптации к гипоксии увеличивается анаэробный синтез АТФ за счет активации гликолиза, компенсаторное усиление которого не всегда, однако, оказывается эффективным и адекватным для поддержания на должном уровне энергетического обмена, причем не только

в эритроцитах, но и в различных органах и тканях. Нарушение же гликолиза в эритроцитах приводит к изменению дыхательной и гомеостатической функций крови.

Реакции гемогликолиза тесно сопряжены с реакциями другого, но не менее важного пути углеводного обмена — пентозофосфатного цикла, или гексозомонофосфатного шунта, ключевым регуляторным ферментом которого является глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г-6-ФДГ).

При недостатке в эритроцитах Г-6-ФДГ снижается образование НАДФ·Н, что может привести к усиленному гемолизу эритроцитов, гемолитической анемии и гипоксическому состоянию организма. Применяя же некоторые фармакологические вещества у больных с Г-6-ФДГ-недостаточностью, можно повысить стабильность восстановленного глутатиона и понизить интенсивность гемолитических кризов [6].

При гипоксии различного генеза усиливаются два противоположно направленных процесса: кроветворение и кроверазрушение, причем последнее предшествует первому [1, 12]. Возможно, что причина гемолиза при этом состоит не только в активации свободнорадикальных процессов в тканях и перекисного окисления липидов в биомембранах, в недостаточной мощности биоантиоксидантных систем, но и в снижении активности Г-6-ФДГ. Данные литературы по этому вопросу мало численны и противоречивы. Так, при анемии, связанной с хронической почечной недостаточностью, активность Г-6-ФДГ в эритроцитах оказалась пониженной [9], тогда как при инфаркте миокарда, протекающем, как известно, с выраженными явлениями кислородной недостаточности, она повышена [14]. При циркуляторной гипоксии, вызванной окклюзией общих сонных артерий у крыс, активность Г-6-ФДГ в мозгу тоже повышалась [7].

В последнее время много внимания уделяется синтетическому препарату ионолу (дибунол-2-6-ди-(трет-бутил)метилфенол) в связи с его антиоксидантным и антистрессорным эффектами [8]. Не связаны ли такие эффекты с влиянием препарата на пентозофосфатный путь метаболизма при гипоксии?

Цель нашей работы — изучить активность Г-6-ФДГ при гипоксии различного генеза и влияние на нее ионола.

Методика

На 80 белых крысах обоего пола массой 150—200 г проведено три серии опытов, каждая из которых включала несколько групп животных, указанных в тексте. Первая серия — контрольные животные. Во второй серии изучали влияние среднегогорья (пос. Терскол, КБ АССР, 2100 м н. у. м.) и там же влияние острой «барокамерной» гипоксии на некоторые параметры крови. Часть животных была предварительно адаптирована к условиям высоты 2100 м в течение 5 мес. В третьей серии в условиях равнины моделировали гемическую форму гипоксии (нитритная метгемоглобинемия и фенилгидразиневая анемия).

Нитрит натрия (5 мг/100 г) вводили подкожно 1 раз в сутки в течение 2 сут; фенилгидразин — в такой же дозировке трижды через сутки в виде 2 %-ного раствора. Ионол (50 мг/кг) в растворе растительного масла в части опытов вводили перорально в течение 3 сут и более. В части опытов его вводили внутривентриально (120 мг/кг) в течение 2 сут и за 30—40 мин до опыта.

Забор крови осуществляли после надреза кончика хвоста или декапитации. Активность Г-6-ФДГ определяли по методу Motulsky в описании Идельсона и Рустамова [6], а также по методу Kornberg с использованием наборов реактивов фирмы «Boehringer Mannheim» (ФРГ). Фотометрию проводили на фотоэлектроколориметре КФК-2 при длине волны 364 нм в течение 1—15 мин. В расчет взято время 5 мин. Об активности фермента судили по изменению оптической плотности 1 г гемоглобина за 1 мин и выражали в единицах экстинкции (ед. экст.). Содержание общего гемоглобина крови определяли гемиглобинцианидным методом с использованием ацетонциангидрина. Эритроциты подсчитывали в камере с сеткой Горяева.

Результаты и их обсуждение

В табл. 1 представлены результаты, которые свидетельствуют о том, что в первые дни пребывания в горах на высоте 2 100 м утилизация глюкозы по пентозофосфатному пути, по-видимому, усиливается, поскольку активность Г-6-ФДГ достоверно возрастает. К 20-м суткам пребывания на высоте Г-6-ФДГ-активность несколько снижается, но у животных, адаптированных к условиям этой высоты в течение 5 мес, значение этого показателя тоже оказывается более высоким, что согласуется с данными Симановского и соавт. [10] и связано, по-видимому, с «омоложением» крови: в молодых клетках крови активность Г-6-ФДГ выше, чем в стареющих эритроцитах.

В табл. 2. представлены результаты наших исследований с учетом различной предварительной адаптированности животных к условиям высоты 2100 м. Оказалось, что острая кратковременная гипоксия различной степени и продолжительности не сопровождается существенными (хотя в некоторых случаях и достоверными) различиями активности Г-6-ФДГ. Значительного усиления ее активности, выше того значения, которое устанавливается в естественных условиях высоты 2 100 м, не отмечалось. Только при выдерживании крыс на высоте 9000 м в течение 3 ч обнаруживается тенденция к возрастанию относительной активности Г-6-ФДГ (на 18,9 %). Возможно, это связано с поступлением в кровяное русло депонированной крови и, следовательно, более старых эритроцитов. В опытах Горошинской и соавт. [3] показано, что в сыворотке крови крыс после пребывания их на «высоте» 9000 м в течение часа активность Г-6-ФДГ возросла вдвое, что авторы связывают с дестабилизацией эритроцитарных мембран, а также выходом фермента из других тканей. При менее выраженной острой гипоксии, соответствующей «высоте» 7 500 м, активность Г-6-ФДГ эритроцитов в опытах не изменялась [15], а по данным Хмелевского и соавт. [3], — снижалась, так же как и в работе Симановского и соавт. [10], но при хронической гипоксии в условиях барокамеры. В большинстве наших опытов, кроме одной группы животных, не наблюдалось сколько-нибудь выраженного снижения активности Г-6-ФДГ, что связано, по-видимому, с благоприятным влиянием предварительной адаптации к условиям среднегорья. Следует подчеркнуть, что в наших экспериментах с использованием барокамеры не отмечалось существенных сдвигов концентрации общего гемоглобина крови по сравнению с тем возросшим значением этого показателя, которое установилось во время пребывания животных в горах до действия «барокармерной» гипоксии.

Что же касается влияния ионола, то отмечается его стимулирующее действие на пентозофосфатный цикл. В условиях нормоксии активность Г-6-ФДГ под влиянием ионола возросла незначительно. Но

Таблица 1. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) крови крыс в условиях равнины и среднегорья, а также введения ионола

Условие опыта	Группа животных	Число животных	Активность Г-6-ФДГ, ед. экст.	Изменение активности Г-6-ФДГ, %	Достоверность отличий
Равнина (контроль)	1-я	18	$2,94 \pm 0,04$	—	
Равнина и ионол	2-я	6	$3,12 \pm 0,1$	+6,1	>0,05
Среднегорье					
6—10 сут	3-я	12	$3,52 \pm 0,05$	+19,1	<0,001
18 сут	4-я	6	$2,62 \pm 0,08$	-11,1	<0,01
5 мес	5-я	6	$3,31 \pm 0,1$	+13,9	<0,05
Среднегорье и ионол					
18 сут	6-я	6	$2,98 \pm 0,12$	-13,1	<0,001
5 мес	7-я	6	$3,53 \pm 0,09$	+20,0	<0,001

Примечание. Достоверность различий 2-, 3-, 4- и 6-й групп животных по отношению к контролю, групп 5-й и 7-й — к исходным значениям.

в гипоксических условиях среднегорья и барокамеры, при хронической или острой форме кислородной недостаточности, активность Г-6-ФДГ соответственно была выше у тех животных, которым вводили ионол, причем больше в естественных условиях среднегорья (см. табл. 1), чем в условиях барокамеры (см. табл. 2).

Можно поэтому полагать, что повышение активности Г-6-ФДГ в условиях среднегорья, а следовательно, и активация пентозофосфатного цикла имеют адаптивное значение и являются основополагающими механизмами повышения концентрации глутатиона в горах [1, 11], чем и объясняется более легкое течение метгемоглобинемии в таких условиях [5].

При моделировании одной из форм гемической гипоксии, нитритной метгемоглобинемии, в условиях равнины оказалось, что через час после введения окислителя, когда концентрация метгемоглобина достигала максимального значения, активность Г-6-ФДГ еще существенно не изменялась и составляла $3,07 \text{ ед. экст.} \pm 0,12 \text{ ед. экст.}$ (вместо $2,93 \text{ ед. экст.} \pm 0,12 \text{ ед. экст.}$ в исходном состоянии). Но через сутки после второй инъекции она возросла на 32,8 %, что статистически достоверно. Повышение активности Г-6-ФДГ на 16 % исходной отмечено [2] при длительном введении в желудок крыс небольших доз нитрита натрия.

Другой формой гемической гипоксии является фенилгидразиновая анемия (табл. 3), которая протекает с выраженным гемолитическим синдромом, что приводит к необходимости повышения содержания НАДФ·Н как донора водорода и электронов в восстановительных про-

Таблица 2. Влияние моделируемой в барокамере острой гипоксии и ионола на активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) эритроцитов крови крыс, пребывающих в условиях среднегорья

Воздействующий фактор	Активность Г-6-ФДГ, ед. экст.	Изменение активности Г-6-ФДГ, %	Достоверность отличий
I группа животных — 6 крыс			
Среднегорье в течение 10 сут	$3,15 \pm 0,15$		
«Высота» 7 500 м в течение 2 ч	$3,50 \pm 0,16$	+8,5	>0,1
II группа животных — 6 крыс			
Среднегорье в течение 18 сут	$3,22 \pm 0,04$		
«Высота» 7 500 м в течение 5 ч	$3,50 \pm 0,09$	+8,6	<0,001
III группа животных — 6 крыс			
Среднегорье в течение 20 сут	$2,98 \pm 0,1$		
«Высота» 7 500 м в течение 5 ч и введение ионола	$2,90 \pm 0,1$	-2,7	>0,5
IV группа животных — 12 крыс			
Среднегорье в течение 6 сут	$3,83 \pm 0,08$		
«Высота» 9 000 м в течение 1 ч	$3,67 \pm 0,07$	-4,2	<0,001
V группа животных — 12 крыс			
Среднегорье в течение 18 сут	$2,62 \pm 0,09$		
«Высота» 9 000 м в течение 1 ч и введение ионола	$3,00 \pm 0,1$	+14,5	<0,02
VI группа животных — 6 крыс			
Среднегорье в течение 5 мес	$3,56 \pm 0,14$		
«Высота» 9 000 м в течение 1 ч и введение ионола	$3,69 \pm 0,04$	+3,6	>0,2
VII группа животных — 6 крыс			
Среднегорье в течение 5 мес	$3,53 \pm 0,09$		
«Высота» 9 000 м в течение 3 ч	$4,20 \pm 0,1$	+18,9	<0,001

цессах. В разгар анемии, по результатам наших исследований, относительное число эритроцитов уменьшается на 54 %, гемоглобина — на 42 %. Поскольку на 6-е сутки анемии после трех инъекций фенилгидразина в крови циркулируют уже молодые, более резистентные клетки крови, активность Г-6-ФДГ возрастает на 15 % (см. табл. 3). Но наиболее высокая активность ее отмечена при совместном введении фенилгидразина и ионола.

Таблица 3. Влияние фенилгидразиновой анемии и введения ионола крысам * на активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) в эритроцитах

Условие опыта	Активность Г-6-ФДГ, ед. экст.	Изменение активности Г-6-ФДГ, %	Достоверность отличий
Фенилгидразин			
до введения	$3,45 \pm 0,15$	—	—
после 1-й инъекции	$2,91 \pm 0,12$	-15,7	0,02
после 3-й инъекции	$3,98 \pm 0,12$	+15,3	0,02
Фенилгидразин и ионол			
до введения	$2,40 \pm 0,1$	—	—
после 1-й инъекции	$4,11 \pm 0,2$	+71,2	0,001
после 3-й инъекции	$4,70 \pm 0,2$	+95,8	0,001

* Число исследуемых в каждой группе животных составляет 6.

Таким образом, гипоксическое состояние организма, развивающееся при действии гипоксической и гемической форм кислородной недостаточности, а также при адаптации к ним, сопровождается повышением активности Г-6-ФДГ в эритроцитах, что предполагает интенсификацию пентозофосфатного цикла обмена углеводов и окислительно-восстановительных процессов в обмене нуклеотидов. Введение ионола как антиоксиданта оказывает стимулирующее влияние на эти процессы.

Предварительная адаптация животных к условиям среднегорья, приводящая к повышению общей неспецифической резистентности организма, к более легкому течению нитритной метгемоглобинемии и улучшению дыхательной функции крови [4], также связана, по-видимому, с повышением активности этих биохимических процессов, в результате чего последующая острая гипоксия, моделируемая с помощью барокамеры, не сопровождается снижением активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах крыс.

V. P. Dudarev, L. N. Stokach

THE INFLUENCE OF HYPOXIA ON THE ACTIVITY OF GLUCOSO-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE IN THE ERYTHROCYTES OF THE RATS

Biochemical methods have shown, that adaptation of rats to the conditions of the middle mountains (2100 m above sea level) as well as with subsequent affecting acute hypoxia in the hypobaric chamber (7500 m, 2-5 h and 9000 m, 1-3 h) is accompanied by the increase of the activity of glucoso-6-phosphate dehydrogenase. Its level also increases in experiment with nitrite methemoglobinemia and phenylhydrazine anemia, as well as with ionol introduction.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Багдасарова Т. А. Глютатион в крови аборигенов и постоянных жителей Тянь-Шаня на разной высоте // Физиологические адаптации к холоду, условиям гор и субарктики. — Новосибирск : Наука, 1975. — С. 32—38.
2. Васюкович Л. А., Красовский Г. Н. Материалы к обоснованию допустимого суммарного количества нитритов и нитратов в питьевой воде // Гигиена и санитария. — 1979. — № 7. — С. 8—11.

3. Горошинская И. А., Ананян А. А., Броновицкая З. Г., Шугалей В. С. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в сыворотке крови при гипероксии, гипоксии и холодном воздействии // *Вопр. мед. химии.*— 1984.— 30, № 1.— С. 60—63.
4. Дударев В. П. Дыхательная функция крови в условиях горных высот и резистентность организма // *Адаптация и резистентность организма в условиях гор.*— Киев : Наук. думка, 1986.— С. 22—30.
5. Идельсон Л. И., Котоян Э. Р. Об оценке качественного метода Бериштейна для определения глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах в условиях экспедиции // *Лаб. дело.*— 1970.— № 7.— С. 428—431.
6. Идельсон Л. И., Рустамов Р. Ш. Влияние рибофлавина и флавинаденинуклеотида на активность редуктазы глутатиона (РГ) эритроцитов у здоровых и у больных людей с дефицитом активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) // *Пробл. гематологии и переливания крови.*— 1973.— 18, № 3.— С. 21—24.
7. Лавровский С. Н. Изоферментные системы малатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в головном мозге в условиях недостатка кислорода // *Биохимия гипоксии.*— Горький, 1975.— С. 101—105.
8. Меерсон Ф. З. Адаптация, стресс и профилактика.— М. : Наука, 1981.— 239 с.
9. Рябов С. И., Шостка Г. Д. Эритроцит и почка.— Л. : Наука, 1986.— 219 с.
10. Симановский Л. Н., Парцева М. Н., Лившиц Н. М. Влияние гипоксии на активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, гексокиназы и лактатдегидрогеназы в эритроцитах крыс // *Биохимия.*— 1986.— 33, № 5.— С. 942—945.
11. Сиротинин Н. Н. К вопросу о состоянии глутатиона крови на горных высотах // *Тр. Татар. НИИ теорет. и клин. медицины.*— 1934.— Вып. 1.— С. 35—36.
12. Ужанский Я. Г. Физиологические механизмы регенерации крови.— М. : Медгиз, 1968.— 263 с.
13. Хмелевский Ю. В., Заноздра Н. Н., Кахновер Н. Г. и др. Влияние гипоксии на активность витаминзависимых ферментов углеводного обмена в крови и тканях различных органов // *Специальная и клиническая физиология гипоксических состояний.*— Киев : Наук. думка, 1979.— С. 162—163.
14. Шепотинский В. И., Микашинович З. И. Метаболические изменения в клетках крови при различных формах ишемической болезни сердца // *Вопр. мед. химии.*— 1984.— 30, № 1.— С. 25—29.
15. Trojan S., Jelek L., Makoc Z. et al. Vpliv výskove hypoxie na metabolismus glycidu a aminokyselin a na aktivitu některých dehydrogenaz v mozku a na odolnost CNS proti apoxii během ontogeneze krysy // *Zb. lek.*— 1971.— 73, N 4.— P. 204—212.

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

Материал поступил
в редакцию 05.01.88

УДК 612.357.3:612.015.348

Н. В. Макгон

Электронно-микроскопическое изучение структуры печени крысы при действии антимембранных антител

В организме человека в норме и еще чаще при различных заболеваниях печени выявляются аутоантитела к антигенам плазматических мембран гепатоцитов [4, 5, 7]. Вопрос об их физиологической и (или) патологической роли, а также об особенностях их возможного патогенетического действия на структуру и функции клеток печени не выяснен. Один из способов изучения роли аутоантител в организме — моделирование их действия с помощью антител, полученных в ксеногенной системе.

Ранее нами показано, что антимембранные гетероантитела, полученные иммунизацией кроликов плазматическими мембранами гепатоцитов крыс, введенные в воротную вену печени крыс, уже в ранние сроки (5—30 мин) снижают скорость желчеотока. Это снижение обусловлено нарушением транспорта желчных кислот и ионов, связанным со снижением активности Na^+ , K^+ -АТФазы в плазматических мембранах гепатоцитов и, в отличие от действия антител к суммарным антигенам печени, не опосредуется действием гистамина и серотонина [1, 2]. Ультраструктурные изменения клеток печени, лежащие в основе