

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РСФСР
СВЕРДЛОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

ГЛОТОВ
Николай Алексеевич

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В МИТОХОНДРИЯХ ПРИ ГИПОКСИИ
И ИХ КОРРЕКЦИЯ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТОЙ

(03.00.04 биохимия)

Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Свердловск

1972

О Г Л А В Л Е Н И Е

	стр.
В В Е Д Е Н И Е	6
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1. Митохондрии, структура и функции	10
2. Механизм регуляции реакций цикла Кребса и дыхательной цепи	20
Общие положения	20
Регуляция функционального состояния митохондрий	25
3. Влияние гипоксии на окислительные процессы в тканях	33
4. Влияние глутаминовой кислоты на окислительные процессы в организме	43
Обмен глутаминовой кислоты в организме	43
Влияние глутаминовой кислоты на окислительные процессы при гипоксии	51
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	59
1. Полярнографический метод определения дыхания в митохондриях	61
2. Методы определения активности ферментов в мито- хондриях	66
Сукцинатдегидрогеназа	66
Глутаматдегидрогеназа	67
Малатдегидрогеназа	68
НАД Н:цитохром С-оксидоредуктаза	69
Цитохром С-оксидаза	70
Аденозинтрифосфатаза	70
3. Определение кислот цикла Кребса	71
Получение экстракта из тканей и крови	71
Определение α -кетоглутаровой кислоты	72
Определение щавелевоуксусной и пировиноград- ной кислот	74
Определение янтарной кислоты	76

ГЛАВА III. ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ И ГЛУТАМАТА НАТРИЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ	81
1. Тканевое дыхание и активность сукцинатдегидро- геназы в митохондриях печени, сердца и почек при гипоксии и под влиянием глутамата натрия	81
2. Активность глутаматдегидрогеназы в митохондриях печени, сердца и почек при гипоксии и под влияни- ем глутамата натрия	94
3. Активность малатдегидрогеназы в митохондриях печени, сердца и почек при гипоксии и под влияни- ем глутамата натрия	103
4. Активность НАД Н:цитохром С-оксидоредуктазы в митохондриях печени, сердца и почек при гипок- сии и под влиянием глутамата натрия	111
5. Активность цитохромоксидазы в митохондриях печени, сердца и почек при гипоксии и под влиянием глута- мата натрия	118
6. Активность глутамат:щавелевоуксусной-аминотранс- феразы в митохондриях печени, сердца и почек при гипоксии и под влиянием глутамата натрия	125
7. Активность аденозинтрифосфатазы в митохондриях печени, сердца и почек при гипоксии и под влияни- ем глутамата натрия	130
ГЛАВА IV. АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ, СЕРДЦА И ПОЧЕК ПРИ АДАПТАЦИИ БЕЛЫХ КРЫС К ГИПОКСИИ И ПОД ВЛИЯ- НИЕМ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ	143
1. Активность сукцинатоксидазной системы	144
2. Активность глутаматдегидрогеназы и тканевое дыха- ние в митохондриях печени, сердца и почек при хронической гипоксии и под влиянием глутамата натрия	149
3. Активность малатдегидрогеназы в митохондриях пе- чени, сердца и почек при хронической гипоксии и под влиянием глутамата натрия	154
4. Активность НАД Н:цитохром С-оксидоредуктазы в митохондриях печени, сердца и почек при хрони- ческой гипоксии и под влиянием глутамата натрия ..	158

5. Активность цитохром С-оксидазы в митохондриях печени, сердца и почек при хронической гипоксии и под влиянием глутамата натрия	163
6. Активность аденозинтрифосфатазы в митохондриях печени, сердца и почек при хронической гипоксии и под влиянием глутамата натрия	169
7. Влияние кобальта и глутамата натрия на эритропоэз и энергетический обмен в митохондриях печени.	175
ГЛАВА У. СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ КИСЛОТ ЦИКЛА КРЕБСА В КРОВИ, ПЕЧЕНИ, СЕРДЦЕ И ПОЧКАХ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ГИПОКСИИ И ПРИ ВВЕДЕНИИ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ	
1. Содержание янтарной кислоты в крови, печени, сердце и почках белых крыс при гипоксии и введении глутамата натрия	187
2. Содержание L-кетоглутаровой кислоты в крови, печени, сердце и почках белых крыс при гипоксии и под влиянием глутамата натрия	198
3. Влияние гипоксии и глутамата натрия на содержание щавелевоуксусной кислоты в крови, печени, сердце и почках белых крыс	208
4. Влияние гипоксии и глутамата натрия на содержание пировиноградной кислоты в крови, печени, сердце и почках белых крыс	
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	232
ВЫВОДЫ	256
ЛИТЕРАТУРА	261

ПРИНЯТЫЕ В ТЕКСТЕ СОКРАЩЕНИЯ:

АДФ	-	аденозиндифосфорная кислота
АТФ	-	аденозинтрифосфорная кислота
АТФ-аза	-	аденозинтрифосфатаза
ГДГ	-	глутаматдегидрогеназа
ГДФ	-	гуанозиндифосфорная кислота
ГТФ	-	гуанозинтрифосфорная кислота
ДНФ	-	динитрофенол
α -КТГ	-	α -кетоглутаровая кислота
МДГ	-	малатдегидрогеназа
НАД	-	никотинамидадениндинуклеотид окисленный
НАД Н	-	никотинамидадениндинуклеотид восстановленный
НАДФ	-	никотинамидадениндинуклеотидфосфат окисленный
НАДФ Н	-	никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный
ПБК	-	пировиноградная кислота
ШУК	-	щавелевоуксусная кислота

В В Е Д Е Н И Е

Одной из важных проблем современной биологии и медицины является изучение тканевых приспособительных механизмов к недостатку кислорода. Исследованию механизмов адаптации организма к гипоксии посвящено большое количество работ. Интерес биологов и медиков к этой проблеме обусловлен тем, что состояние гипоксии является патогенетической основой сердечно-сосудистых, легочных и многих других заболеваний. Актуальность гипоксической проблемы определяется также тем, что с недостатком кислорода в организме приходится сталкиваться в повседневной жизни, на производстве, при выполнении физической работы, у спортсменов и т.д. Бурное развитие авиации и космонавтики требует скорейшего разрешения многих вопросов, связанных с обеспечением снабжения организма кислородом в условиях космоса и высотных полетов.

Имеющиеся данные литературы по вопросам адаптации организма к острой и хронической гипоксии противоречивы. Обращает на себя внимание пестрота результатов ряда экспериментов, посвященных исследованию влияния острой и хронической гипоксии на функциональное состояние митохондрий и на активность ферментов тканевого дыхания. Недостаток кислорода в организме в первую очередь затрагивает аэробные окислительные процессы, вызывая соответствующие сдвиги в энергетическом обмене митохондрий и организма в целом.

Одним из недостатков работ, посвященных данной проблеме, является то, что отдельные авторы далеко не полностью исследовали весь комплекс ферментов цикла Кребса и тканевого дыхания. Большинство работ посвящено изучению влияния гипоксии на активность одного или небольшой группы митохондриальных ферментов. В связи с тем, что

условия проведения опытов у разных авторов неодинаковы, возникают большие трудности в сравнении и трактовке данных литературы, что не позволяет по ряду вопросов сделать однозначные выводы. В своих опытах мы старались избежать указанных недостатков и поэтому исследовали одновременно большой комплекс наиболее важных ферментов цикла Кребса и тканевого дыхания в митохондриях, выделенных из разных органов одного и того же животного. Изучалось влияние острой и хронической гипоксии на активность глутамат-, малат-, сукцинат-дегидрогеназ, НАДН: цитохром С-оксидоредуктазы, цитохромоксидазы, Mg^{2+} и ДНФ-активируемых АТФ-аз и глутамат щавелевоуксусной аминотрансферазы в митохондриях печени, сердца и почек. В митохондриях печени параллельно с активностью ферментов полярографически определяли тканевое дыхание с использованием в качестве субстратов дыхания глутамата и сукцината.

В литературе имеются лишь единичные работы, посвященные исследованию влияния гипоксии на содержание в тканях некоторых метаболитов цикла Кребса. В частности, имеются работы, где определялась концентрация янтарной и пировиноградной кислот при недостатке кислорода в организме. Работ, посвященных влиянию острой и хронической гипоксии на концентрацию таких важнейших метаболитов цикла Кребса, как янтарная, L-кетоглутаровая и щавелевоуксусная кислоты, в литературе нет. Поэтому в своих исследованиях мы предприняли попытку в какой-то мере восполнить указанный пробел.

Актуальной проблемой современной клинической, спортивной и космической медицины является изыскание препаратов, способствующих улучшению аэробных окислительных процессов в организме в условиях гипоксии.

Значение глутаминовой кислоты определяется ее участием во многих видах обмена веществ. Легко вовлекаясь в цикл трикарбоновых

кислот, она обеспечивает взаимосвязь обмена белков, углеводов и отчасти жиров, оказывая тем самым регулирующее влияние на окислительные процессы и энергетический обмен в тканях. Это соединение занимает доминирующее положение в удалении свободного аммиака из тканей, участвует в синтезе нуклеиновых кислот, глутамина и некоторых витаминов. Не менее важным в метаболизме глутаминовой кислоты является ее способность оказывать регулирующее влияние на функцию нервной системы, что обусловлено участием этого соединения и ее метаболита γ -аминомасляной кислоты в синтезе ацетилхолина и в энергетическом обмене мозга.

В последние годы было обнаружено стимулирующее влияние глутаминовой кислоты на функциональное состояние щитовидной железы (М.С.Волков, 1966, 1968, 1969) и коркового слоя надпочечников (Н.А.Удинцев, 1965). При этом следует отметить, что увеличение выработки кортикостероидных гормонов обусловлено активирующим влиянием глутаминовой кислоты на аэробные окислительные процессы в надпочечниках (Н.А.Удинцев, 1968).

Глутаминовая кислота нашла широкое применение в клинической практике при лечении различных заболеваний. Ее применяют в нервной (Андреев и соавт., 1955; Драгунова, 1955; Беспалов и соавт., 1956; Бессонова и соавт., 1956; Назарова и соавт., 1958) и психиатрической (H. Lauenstein, 1952; Б.Н. Косовский и соавт., 1955; А.А.Литвин, 1956; Т.Н.Волкова и соавт., 1956; J. Munkvad, 1958; H. Goldstein, 1958; К.А.Вангенгейм, 1962), акушерской (Адинцова, 1962; Жордания, 1965) и педиатрической (Н.К.Белая, 1961; Жалыбина, 1963; Славкина, 1965; Т.Э.Вогулкина, 1965, 1966; Н.П.Демченко, 1971), терапевтической (З.В.Горбунова, 1960; И.П.Замотаев, 1966) и других клиниках. Особенно часто и с успехом она используется для лечения заболеваний, сопровождающихся явлениями гипоксии.

В связи с изложенным есть все основания полагать, что терапевтический эффект глутаминовой кислоты при столь разнообразных патологических состояниях и заболеваниях организма связан с ее активным участием в регуляции клеточного метаболизма, в частности функционального состояния митохондрий. С другой стороны, она выступает как регулятор функции нейро-эндокринной системы, играющей важную роль в адаптации организма к воздействиям различных факторов внешней среды.

Однако имеющиеся немногочисленные данные литературы недостаточно полно раскрывают все аспекты механизма действия глутаминовой кислоты *in vivo* на аэробные окислительные процессы при острой гипоксии. В литературе отсутствуют сведения о влиянии этой аминокислоты на обменные процессы в организме при адаптации к хронической кислородной недостаточности.

Мы полагали, что изучение активности важнейших ферментов цикла Кребса и тканевого дыхания в митохондриях печени, сердца и почек, а также определение концентрации некоторых кислот цикла Кребса в указанных органах позволит судить о механизме действия глутаминовой кислоты на аэробные энергодающие окислительные процессы при острой и хронической гипоксии.

Г л а в а I

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

I. МИТОХОНДРИИ, СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ

Митохондрии являются органоидами клетки, основная функция которых заключается в осуществлении аэробных энергодающих окислительных процессов. При реализации последних происходит трансформация энергии окисляющихся субстратов в макроэргические связи аденозин-трифосфорной кислоты (АТФ) (Д.Грин, С.Флейшер, 1964; А.Ленинджер, 1966; В.Н.Скулачев, 1969).

Открытие митохондрий связывают с именем Бенда (1898 год). Несмотря на сравнительно большой срок, прошедший с момента открытия митохондрий, наибольший прогресс в изучении их структуры и функций был достигнут за последние 15-20 лет (А.Л.Шабадаш, 1966), благодаря внедрению в практику электронной микроскопии, разработке методов ультратонких срезов (G.E. Palade, 1952; F.C. Sjostrand, 1953, 1956), выделению митохондрий из органов и тканей (G.H. Nogboom и соавт., 1948; Г.Хогсбум и соавт., 1957) и совершенствованию методов исследования их функционального состояния (М.Н.Кондрашова и др., 1965; М.Н.Кондрашова, Л.В.Николаева, 1966; М.Н.Кондрашова, 1968, 1969).

Формы и размеры митохондрий не одинаковы в разных органах и тканях. Они могут иметь вид палочек, нитей, овоидных и звездчатых образований и т.д. (Ф.Шестранд, 1957; Ж.Браше, 1960; Д.Грин, 1964; А.Ленинджер, 1966; А.Л.Шабадаш, 1966; D.O. Hall, I.M. Palmer, 1969). Размеры митохондрий колеблются от 0,2 до 2 микрон в поперечнике и имеют длину до 10 микрон.

При исследовании ультраструктуры митохондрий с помощью элек-

тройного микроскопа было обнаружено, что они представляют собой полые органоиды, ограниченные снаружи двумя мембранами — наружной и внутренней. Каждая из мембран состоит из трех слоев — наружного и внутреннего — осмеофильных белковых слоев, между которыми расположен не окрашивающийся осмиевой кислотой прозрачный слой, состоящий из липопротеидов (I.M. Palade, 1952; Ф.Шестранд, 1957, 1959, 1963; D.Green, F.L.Grane, 1957; Д.Грин, 1964; А.Л. Шабадаш, 1966).

От внутренней мембраны к центру митохондрий отходят так называемые кристы, представляющие собой дубликатуру внутренней мембраны (Д.Грин, С.Флейшер, 1964; Д.Грин, 1964; А.Ленинджер, 1966), которая имеет пятислойную структуру (K.S. Prezbindowskj и др., 1969). Между кристами, в пространстве, ограниченном внутренней мембраной, расположено осмеофильное вещество, называемое матриксом (I.M. Palade, 1952; F.Sjöstrand, I. Rhodin, 1953; Ф.Шестранд, 1959, 1963; А.Л.Шабадаш, 1966; А.Ленинджер, 1966). С помощью электронной микроскопии с высокой разрешающей способностью было установлено, что матрикс представляет собой организованную ретикулярную сеть белковой природы, имеющую непрерывную связь с внутренней мембраной митохондрий.

Структура матрикса перестраивается в зависимости от функционального состояния митохондрий: при низкоэнергетическом состоянии этих гранул структура матрикса замкнута и уплотнена, а в митохондриях, находящихся в "энергизованном" состоянии, матрикс просветляется и представляет собой растянутую решетку (C.R. Nassenbrosch, 1968).

Д.Грин (D.Green) в 1948 году сообщил о способности частиц, выделенных из тканей, осуществлять окисление пировиноградной кислоты до углекислого газа и воды без накопления промежуточных продуктов. Этот ферментный комплекс был назван циклофоразой

системой. В последующих работах Д.Грин доказал, что циклофоразная система способна осуществлять реакции цикла трикарбоновых кислот (D.Green, 1951, 1953).

Одновременно с Грином, E.P.Kennedy, A.Leheninger (1948), W.G.Schneider, V.R.Potter (1949) установили, что изолированные митохондрии могут окислять некоторые метаболиты цикла Кребса. Это позволило Грину (1952) сделать вывод о том, что ферменты циклофоразной системы локализованы в митохондриях.

Исследованию молекулярной организации митохондриальных мембран посвящено большое количество работ (H.P.Mahler и соавт., 1952; G.S.Christil, I.D.Iadan, 1953; В.П.Скулачев, 1967, 1969; D.W.Allman и соавт., 1968; W.Zahle и соавт., 1968; В.Н.Лузиков и соавт., 1968). Д.Грин (1964, 1966) считает, что ферменты цикла Кребса и субстратного фосфорилирования локализованы во внешней мембране митохондрий, а во внутренней мембране, состоящей из элементарных частиц, расположены ферменты дыхательной цепи, окислительного фосфорилирования и β -окисления жирных кислот (C.Landrisina и соавт., 1970). При этом каждая элементарная частица содержит полный набор энзимов, осуществляющих транспорт электронов по дыхательной цепи, сопряженный с синтезом АТФ. В пространстве между наружной и внутренней мембранами в растворенном состоянии находятся соли и коферменты: КоА, НАД, НАДФ и другие нуклеотиды, которые являются связующим звеном между наружной и внутренней мембранами.

Несколько позднее в лаборатории Д.Е.Грина (D.W.Allman и соавт., 1968) после обработки митохондрий печени крыс фосфолипазой были получены 3 фракции, обозначенные авторами S, R_I и R₂. Растворимая S фракция обладала всеми ферментами цикла Кребса и была локализована между наружной и внутренней мембранами. Фракция R_I, способная окислять α -кетоглутаровую кислоту, оказалась связанной с на-

ружной мембраной, а фракция R_2 , выделенная из крист, содержала ферменты цепи переноса электронов, АТФ-азу и моноаминоксидазу.

По мнению Д.Грина, НАД, восстанавливаясь на наружной мембране, совершает челночное движение к внутренней мембране, где окисляется и отдает электроны в систему дыхательных ферментов внутренней мембраны.

Электронно-микроскопические исследования детергированной внутренней мембраны митохондрий показали, что она распадается на две фракции: "красную", состоящую из цитохромов В и С и НАДН:цитохром С - редуктазы, и "зеленую", в которой выявлена цитохром С - оксидазная активность (K.S. Presbindowsky и соавт., 1969).

Ферменты митохондрий неодинаково прочно связаны с мембранами. Наиболее прочную связь имеет глутаматдегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа и цитохром С - оксидаза (W.I. Shneider, 1946; G.Hogeboom и соавт., 1948, 1950; Е.Курф, Г.Шнейдер, 1957; А.А.Покровский и соавт., 1968). Эти ферменты относят к индикаторным энзимом митохондрий (А.А.Покровский и соавт., 1968). Ферменты, окисляющие восстановленные формы НАД и НАДФ, распределены в клетке диффузно (В.И.Шнейдер, 1957); с митохондриями связано 28% активности НАДН:цитохром С-оксидоредуктазы (G.Hogeboom, W.I.Shneider, 1950).

В лаборатории Д.Грина с помощью специальной обработки митохондрий удалось получить и очистить четыре комплекса (рис. 1):

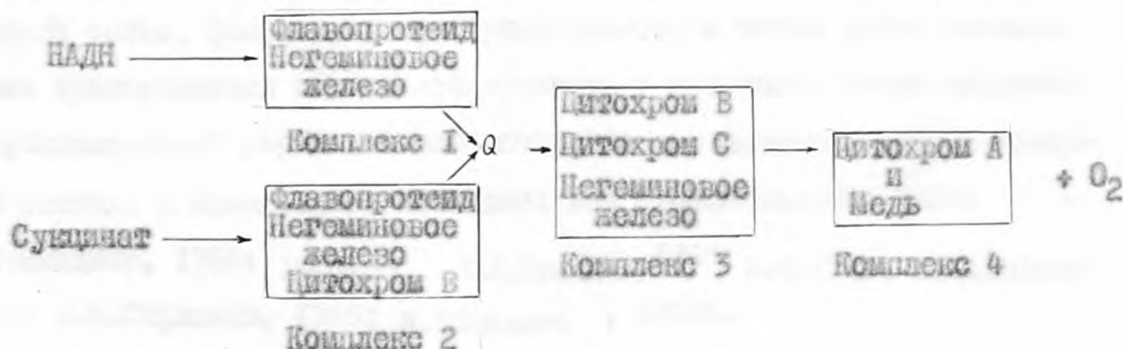


Рис. 1. Комплексы ферментов дыхательной цепи

(D. Green и др., 1964)

комплекс 1 - НАДН: убихинон - оксидоредуктаза (КФ.1.6.5.3);
 комплекс 2 - сукцинат: убихинон - оксидоредуктаза (КФ.1.3.99.1);
 комплекс 3 - убихинон: Цитохром С - оксидоредуктаза и
 комплекс 4 - цитохром С - оксидаза (К Ф.1.6.2.3).

Все четыре комплекса, соединяясь в определенных молярных соотношениях, образуют одну функциональную единицу (Д.Грин, С.Флейшер, 1964). Высокоочищенные препараты этих комплексов не могут осуществлять реакции окислительного фосфорилирования. Это дало основание А.Л.Ленинджеру (1966) высказать предположение о том, что до настоящего времени еще не все переносчики электронов идентифицированы.

Молекулярный вес комплекса 1 - НАДН:убихинон - оксидоредуктазы составляет 900 000. В состав протетической группы этого комплекса входят 1 моль флавиномононуклеотида и 26 молей негеминового железа. Молекулярный вес сукцинат: убихинон - оксидоредуктазы равен 200 000. Этот комплекс содержит 1 моль флавопротеида и 8 молей негеминового железа (D.O.Hall, I.M.Palmer, 1969).

В.П.Скулачев (1969) полагает, что дыхательная цепь содержит один фермент, который можно назвать как НАДН - оксидазой, а отдельные дыхательные переносчики - как субъединицы, составляющие нативный белок четвертичной структуры.

Состав матрикса окончательно не расшифрован. Полагают (Д.Грин, 1962; А.Ленинджер, 1966; С. Landriscina, 1970), что ферменты синтеза белка, фосфолипидов, жирных кислот, а также часть энзимов цикла трикарбоновых кислот локализованы в матриксе. Более подробно с архитектурой ферментов митохондрий можно познакомиться в обзорных статьях и монографиях последних лет (Т.Б.Казакова, 1965; А.Ленинджер, 1966; D.Green, R.A.Harris 1969; D.O.Hall, I.M.Palmer 1969; В.П.Скулачев, 1969; M.Steinert, 1969).

Известно, что окисление различных субстратов в цикле Кребса

сопровождается дегидрированием. Сущность этого процесса состоит в том, что при каждом дегидрировании происходит выделение двух активных электронов. Важнейшая функция митохондрий состоит в преобразовании энергии этих электронов в макроэргические соединения. В этом аспекте цикл трикарбоновых кислот можно рассматривать как некий механизм, снабжающий высокоэнергетическими электронами "топку", где сгорают субстраты. По образному выражению Д.Грина (1964), такой "топкой" является цепь переноса электронов, конечным акцептором которых является кислород.

Впервые синтез АТФ был обнаружен Энгельгардтом в 1930 году в ядерных эритроцитах. В 1939 году Белицер и Цибакова, изучая дыхание на кашицах разных органов, обнаружили, что отношение поглощенного неорганического фосфора из инкубационной среды к потребленному кислороду (коэффициент $P:O$) при окислении одной молекулы субстрата больше единицы. По мнению этих авторов, завышенный коэффициент $P:O$ обусловлен синтезом АТФ при транспорте электронов по дыхательной цепи. Аэробный ресинтез АТФ был назван Белицер и Цибаковой окислительным фосфорилированием.

На рисунке 2 приведена схема транспорта электронов от окисляющихся субстратов через дыхательные переносчики на кислород. Начальные пути поступления электронов и протонов от различных субстратов отличаются друг от друга.

Как отмечалось выше, в митохондриях содержатся ферменты окисления жирных кислот, цикла Кребса и аминокислот. При дегидрировании этих субстратов электроны и протоны поступают в дыхательную цепь различными путями, и, лишь, начиная с цитохрома В, путь следования электронов до кислорода становится общим.

В прочно сопряженных митохондриях окисление сопровождается синтезом разного числа молекул АТФ (рис. 2): двух молекул при

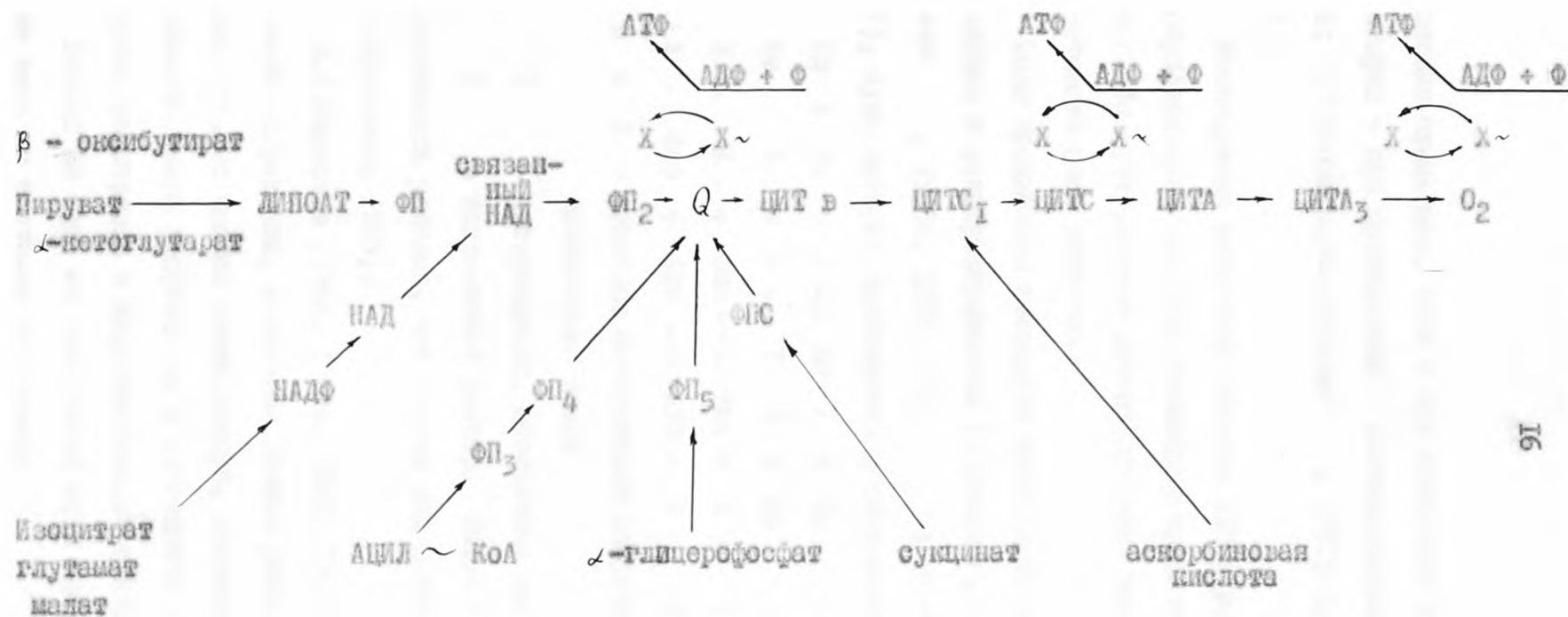
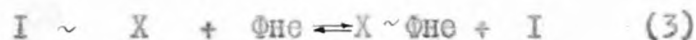
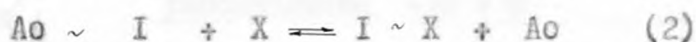
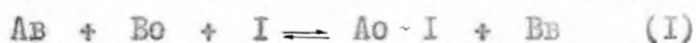


Рис. 2. Схема транспорта электронов и этапы синтеза АТФ в дыхательной цепи митохондрий (А.Леннадер, 1966; А.Д. Виноградов, 1967; В.П.Скулачев, 1969)

окислении сукцината, трех - при окислении НАД-зависимых субстратов и четырех - при катобализме α -кетоглутарата (С. Cooper, A. Lehninger, 1956; W.C. Hulsman, E.C. Slater, 1957; С.Е. Северин, 1959, 1962, 1964).

Расшифровка механизма синтеза АТФ в реакциях окислительного фосфорилирования является важнейшей проблемой современной биоэнергетики. На пути решения данной проблемы возникло несколько гипотез, объясняющих этот механизм.

Было предложено несколько химических концепций сопряжения окисления с фосфорилированием (B. Chance, C.R. Williams, 1955; Slater, 1953a, 1957, 1962; D.K. Mayers, E.C. Slater 1957), суть которых заключается в следующем:



где А и В - соседние переносчики фосфорилирующего участка дыхательной цепи;

I - интермедиант, обеспечивающий сохранение энергии $A \sim I$

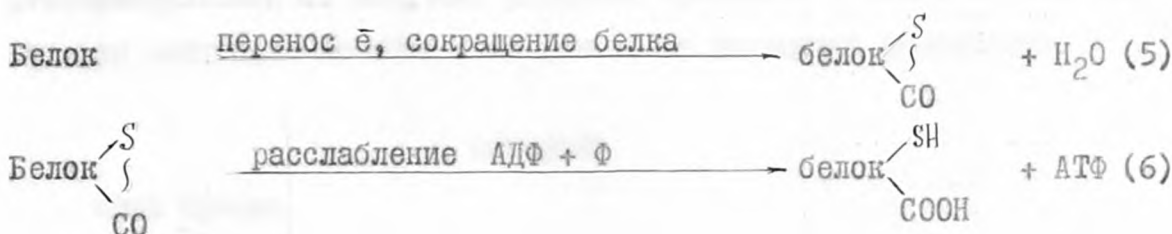
X - неизвестный фактор. Попытки выделить этот фактор не увенчались успехом, что ставит под сомнение его существование (В.П. Скулачев, 1969).

В.П. Скулачев (1964, 1964a, 1966, 1969) предложил "адениловый" механизм сопряжения, в котором важная роль отводится адениннуклеотидам. АДФ, по мнению этого автора, является не просто акцептором макроэргического фосфата, но и участником трансформации энергии активных электронов в макроэргические связи.

Однако ни одна из химических схем окислительного фосфорилирования пока не получила признания.

Тщетность попыток найти интермедиант сопряжения X послужила поводом для новых исследований. Несколько позднее была предложена механохимическая гипотеза окислительного фосфорилирования.

Механохимическая гипотеза П.Д.Бойера (1964) привлекает к себе внимание тем, что в этой схеме сопряжения отсутствует неизвестный интермедиант ~ X. Сущность ее заключается в том, что актомиозиноподобный белок мембран митохондрий, поглощая энергию электронов, сокращается с образованием макроэргической связи (реакция 5). При расслаблении этого белка происходит этерификация молекулы АДФ с образованием аденозинтрифосфорной кислоты (реакция 6).



Совсем недавно (D.E.Green, R.A.Harris, 1969) предложена гипотеза, по своей сущности близкая к теории Бойера, которая объясняет окислительное фосфорилирование изменениями структурного состояния элементарных частиц крист митохондрий. Элементарная частица может существовать в двух формах: "неэнергизованной" и "энергизованной". Конформационные изменения при окислительном фосфорилировании авторы представляют себе, как переход частиц из "неэнергизованного" состояния в "энергизованное" и снова в "неэнергизованное" состояние. При осуществлении этого цикла происходит синтез АТФ.

За последние годы некоторую популярность приобрела хемиосмотическая концепция фосфорилирования Митчела (R.Mitchell, 1961, 1967), которая основывается на представлении о том, что при дыхании на мембране митохондрий появляется электрохимический потенциал, возникающий в результате накопления протонов с наружной стороны и ионов

гидроксильная — с внутренней стороны мембраны. При разрядке этого потенциала происходит синтез АТФ. На рисунке 3 представлена упрощенная схема, объясняющая этот механизм. В настоящее время экспериментально доказана возможность возникновения мембранного потенциала митохондрий при дыхании или гидролизе АТФ, но неизвестно, имеет ли этот потенциал прямое отношение к окислительному фосфорилированию или не обусловлен вторичной эндергонической реакцией, связанной с дыхательной цепочкой (J.B. Chappel, M.K. Naarhoff, 1966; В.П. Скулачев, 1969, 1969а, 1972).

Однако ни одна из представленных выше концепций окислительного фосфорилирования не получила должного признания в связи с тем, что все эти концепции не объясняют полностью механизма сопряжения.

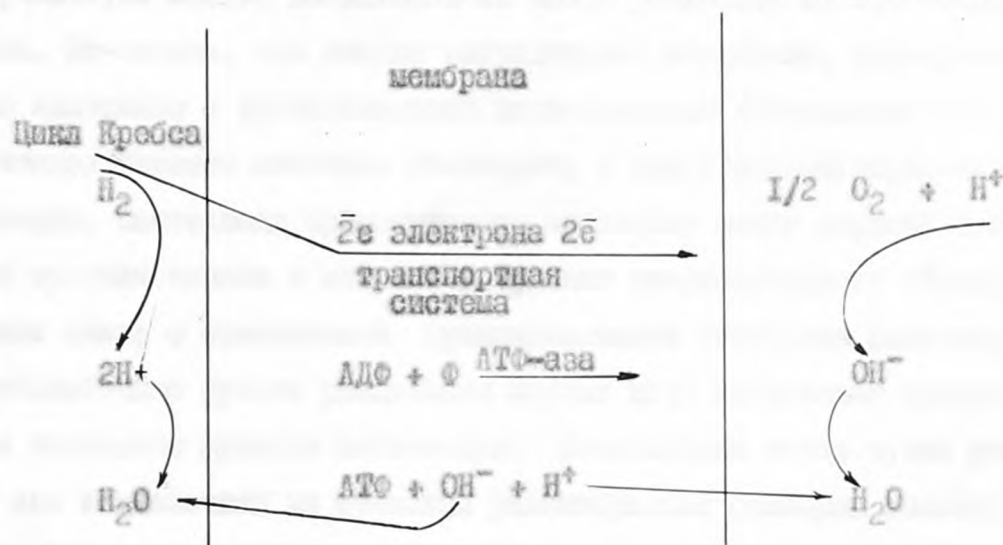


Рис. 3. Схема хемосмотической теории окислительного фосфорилирования (по P. Mitchell, 1961, 1967)

Энергия, накапливаемая при работе ферментов дыхательной цепи, может использоваться, по крайней мере, по пяти различным каналам. К ним относятся: 1) окислительное фосфорилирование, 2) перенос ионов через мембраны митохондрий против градиента концентраций, 3) обратный транспорт электронов по дыхательной цепи, 4) транс-

дегидрогеназная реакция, 5) механохимические изменения объема митохондрий (R.S.Rossi , A.L. Lehninger , 1963; B. Chance , 1965; А.Д.Виноградов, Ю.В. Евтодченко, 1967; А.Д.Виноградов, 1967, 1971). Между этими путями использования энергии существует тонко сбалансированная взаимосвязь, обеспечивающая регуляцию окислительных процессов в митохондриях.

2. МЕХАНИЗМ РЕГУЛЯЦИИ РЕАКЦИЙ ЦИКЛА КРЕБСА И ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

Общие положения

В регуляции тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования участвуют многие механизмы. Их можно разделить на три большие группы. Во-первых, это высшие регуляторные механизмы, непосредственно связанные с функциональной деятельностью центральной и периферической нервной системы. Во-вторых, к ним относятся гормональная регуляция, занимающая промежуточное положение между нервной системой и третьим звеном в системе регуляции энергетического обмена, имеющим связь с изменениями функционального состояния митохондрий. На субклеточном уровне реализация первых двух механизмов происходит через изменение функции митохондрий. Митохондрии очень чутко реагируют при воздействии на организм разнообразных факторов внешней среды. При этом изменяются морфологическая структура, концентрация эндогенных субстратов и функциональное состояние митохондрий. Все это в конечном итоге приводит к изменению скоростей реакций цикла Кребса и активности ферментов дыхательной цепи.

Наиболее простым типом регуляции активности ферментов является регуляция по типу обратной связи. Скорость химической реакции зависит от концентрации субстрата и продукта реакции. По мере осуществления химической реакции уменьшается концентрация реагента и увеличивается количество продукта реакции. Оба эти фактора снижа-

ют активность ферментов (Б.Чанс, 1964; В.П.Скулачев, 1969).

Более сложный регуляционный механизм связан с пространственной разобщенностью фермента и субстрата. Отдельные ферментные комплексы расположены в мембранах субклеточных структур таким образом, что они отделены от субстратов мембранами. Обязательным условием любого ферментативного процесса является непосредственный контакт фермента с субстратом. Субстрат, поступая в клетку, накапливается в каком-то отсеке, отделенном от фермента преградой. Роль такой преграды в митохондриях и других субклеточных структурах выполняет липопротеидная мембрана. Проницаемость этой мембраны для фермента всегда закрыта. Предполагается, что скорость химической реакции определяется проницаемостью мембраны для субстрата (В.П.Скулачев, 1969). Поэтому все факторы, которые могут изменять проницаемость мембран, увеличивать ее или уменьшать, те воздействия, которые могут изменять структуру мембран и вызывать конформационные изменения вмонтированных в них ферментов, могут быть отнесены к арсеналу регуляторов активности ферментов (В.Chance, G.R.Williams, 1956; Б.Дэвис, 1964; Е.А.Мак Елрой, G.R.Williams, 1968; В.Н.Робинсон, G.R.Williams, 1969; С.Е.Северин, 1969).

В настоящее время установлено, что активные центры ферментов имеют несколько функциональных групп, нередко далеко отстоящих друг от друга в пептидных цепях молекулы белка, но находящихся на близком расстоянии друг от друга благодаря образованию третичной и четвертичной структур белка (Г.Томкинс, К.Йилдинг, 1964; В.Л.Кретович, 1967). Один из этих активных центров, названный каталитическим, участвует в образовании фермент-субстратного комплекса и непосредственно в химических превращениях субстрата. Другой — выполняет вспомогательную функцию. Хотя этот участок фермента не принимает непосредственного участия в химической реакции, однако он

может существенно влиять на конформацию первого центра и изменять активность фермента. В отличие от активного центра его называют аллостерическим центром (В.Л.Кротович, 1967). Аллостерические эффекторы, относящиеся обычно к низкомолекулярным соединениям, не являются аналогами субстратов. Их участие в регуляции активности ферментов сводится к тому, что эффектор, присоединяясь к аллостерическому центру, вызывает такие конформационные изменения структуры белка, которые сопровождаются или увеличением или уменьшением активности фермента (I.C.Gerchart, A.B. Pardee, 1963, 1964; В.Л.Кротович, 1967; С.Е.Северин, 1969).

Изучение кинетики ферментативных реакций аспартат-транскарбоксилазы (I.C.Gerchart, A.B.Pardee, 1963, 1964) и тиреоинидеаминазы (I.P.Changeux, 1963; M.Frendlich, H.E.Umbarger, 1963) показало, что эти ферменты состоят из нескольких субъединиц, которые могут лабильно реагировать как на присутствие субстрата, так и на наличие аллостерического эффектора. Предполагают, что степень прочности связей между субъединицами, входящими в состав фермента, определяет его способность изменять свою конформацию в присутствии аллостерических ингибиторов или активаторов. Под действием аллостерического активатора, вероятно, происходит ослабление связей между субъединицами и лабилизация структуры фермента, что сопровождается такими конформационными изменениями четвертичной структуры белка, которые облегчают образование фермент-субстратного комплекса и реализацию химической реакции. Аллостерический ингибитор, наоборот, делает связи между субъединицами более прочными и препятствует конформационным изменениям в четвертичной структуре, делая ее более жесткой, что затрудняет образование фермент-субстратного комплекса и приводит к ингибированию активности фермента.

В этом плане значительный интерес представляет работа, в кото-

рой изучались каталитические свойства 1-треониндезаминазы (I.P.Changeux, 1963). При воздействии 1,5M раствора мочевины этот фермент полностью диссоциировал на неактивные субъединицы. При этом 1-изолейцин, угнетающий активность этого энзима, препятствовал диссоциации, а активатор 1-треониндезаминазы - 1-норлейцин способствовал инактивации фермента. Эти данные позволили автору сделать вывод о том, что аллостерические активаторы, вызывая частичную диссоциацию фермента, обнажают активные центры и стимулируют его каталитическую активность.

Несколько иной тип воздействия аллостерического эффектора был обнаружен G.N.Cohen, I.C.Patte (1963). Авторами показано, что некоторые аллостерические белки одинаково реагировали на действие активаторов и ингибиторов, независимо от того, находился фермент в диссоциированном или ассоциированном состоянии. Предполагают, что роль аллостерического эффектора в этом случае, вероятно, заключается в более тонком и пока неизвестном влиянии на структуру белка.

Таким образом, анализ данных литературы показывает, что в основе аллостерического эффекта могут лежать разные механизмы, вызывающие изменения конформации ферментов, а следовательно, и разные механизмы регуляции активности аллостерических белков. По мнению Ж.Шанже (1964), концентрационные взаимоотношения аллостерических активаторов и ингибиторов *in vivo* могут оказывать решающее влияние на регуляторные механизмы многих физиологических процессов.

Существуют и другие, несколько отличные от указанных выше механизмы регуляции активности ферментов. В обычных условиях биохимические процессы обеспечиваются лишь частью ферментов, имеющихся в клетке. Помимо этого, существует резервный фонд проферментов, находящихся в неактивной форме. По мере увеличения концентрации субстрата происходит мобилизация фонда ферментов, и за счет увеличения

количества молекул фермента, реагирующих с субстратом, повышается его активность (В.С.Ильин, 1964; С.Е.Северин, 1969). Если субстрат длительное время поступает в организм в повышенном количестве, то наступает индуктивная стимуляция синтеза данного фермента. Индуктивный синтез ферментов часто реализуется опосредованно через гормональную систему (В.Chance, I.R.Williams, 1956; A.M.Nemeth, 1963; В.С.Ильин, 1964; С.Е.Северин, 1969; В.П.Скулачев, 1969).

Один из регуляторных механизмов, существующих в клетке, обусловлен тем, что активный центр фермента реагирует с аналогом субстрата, образуя сравнительно прочный комплекс. Аналог субстрата не подвергается каталитическим превращениям под действием фермента. Образование подобных комплексов сопровождается потерей каталитической активности фермента, что приводит к уменьшению концентрации активных молекул этого энзима. Между субстратом и его аналогом существует конкуренция за активный центр фермента. Конкуренцию выигрывает тот компонент, который содержится в сравнительно высокой концентрации или же имеет более высокую степень сродства с ферментом. Типичным представителем подобного рода регуляторного механизма является щавелевоуксусное ингибирование сукцинатдегидрогеназы.

Многочисленными исследованиями (В.В.Tyler, 1955; В.Chance, G.Hollunger, 1960, 1961, 1961a; L.A.Jones, H.Gutfreund, 1963; М.Н.Кондрашова, 1968, 1969; L.Wojtczak и соавт., 1964, 1969, 1969a; А.Д.Виноградов, 1967, 1968, 1971) установлено, что между янтарной и щавелевоуксусной кислотами существует конкуренция за каталитический центр фермента. При таких ситуациях, когда в результате окислительных процессов в митохондриях накапливается щавелевоуксусная кислота, наступает ингибирование сукцинатдегидрогеназы и торможение предшествующих реакций цикла Кребса. Щавелевоуксусное торможение окисления янтарной кислоты является одним из важнейших

регуляторных механизмов метаболического состояния митохондрий при усиливающих воздействиях на организм (М.Н.Кондрашова, 1968, 1969а, 1970, 1971).

В обзоре литературы приведены наиболее важные и сравнительно хорошо изученные механизмы регуляции, которые не исчерпывают всех возможных вариантов регуляции ферментативной активности, существующих в условиях организма. Мы рассмотрели лишь те варианты, которые осуществляются на субклеточном и молекулярном уровне. Частичные случаи регуляции активности ферментов будут рассмотрены в соответствующих разделах диссертации.

Регуляция функционального состояния митохондрий

Митохондрии, как наиболее чувствительные органеллы клетки, первыми реагируют на самые различные воздействия, которые испытывает организм. Общая тяжесть нагрузки на клетку может суммироваться в митохондриях в связи с возрастающими энергетическими запросами. Изменение уровня энергетического баланса в митохондриях является основой энергетической регуляции работы дыхательной цепи (М.Н.Кондрашова, 1967, 1971).

При исследовании окислительного фосфорилирования в изолированных митохондриях было установлено, что аденозиндифосфорная кислота резко усиливает скорость потребления кислорода и является мощным стимулятором АТФ-синтетазной реакции. Наоборот, АТФ тормозит скорость тканевого дыхания, а в особых условиях способствует восстановлению дыхательных переносчиков, вызывая ретроградный транспорт электронов. Интенсивность дыхания в сопряженных митохондриях определяется отношением $АТФ : АДФ + Фн$, то есть наличием свободных акцепторов фосфата. Такой механизм регуляции интенсивности тканевого дыхания, осуществляемый по принципу обратной связи, получил назва-

ние дыхательного контроля (Н.А. Lardy , Н. Wellman , 1952; В. Chance , G.R. Williams , 1956; В. Chance , М. Baltschewsky, 1958; Н. Клингерберг, П. Шалмейер, 1962).

Регуляция дыхания митохондрий изменяющимися концентрациями АТФ и АДФ + Фн получила название энергетической регуляции (М.Н. Кондрашова, 1971). Скорость дыхания митохондрий определяется не только концентрационными отношениями АТФ и АДФ, в значительной степени она зависит от концентрации эндогенных субстратов митохондрий и от наличия кислорода.

Исследуя влияние всех этих факторов на характер дыхания, В. Chance , G.R. Williams (1955) выделили пять метаболических состояний митохондрий (табл. I): первое — дыхание лимитируется субстратом и акцептором фосфата; второе — имеется дефицит субстрата окисления; третье — активное, скорость дыхания зависит от активности ферментов; четвертое — "отрегулированное"; фактором, ограничивающим дыхание, является акцептор фосфата; пятое — анаэробноз.

Таблица I

Функциональное состояние митохондрий
по Чансу (В. Chance , G.R. Williams , 1955)

Состояния	Показатели				Степень восстановленности компонентов дыхательной цепи в устойчивом состоянии, в %				
	Содержание АДФ	Содержание субстрата	Интенсивность дыхания	Вещество, лимитирующее скорость дыхания	Цитохрома			Флавопротеида	Пиридин нуклеотида
					а	с	в		
1	Низкое	Низкое	Малая	Субстрат АДФ	0	7	17	21	90
2	Высокое	0	Малая	Субстрат	0	0	0	0	0
3	Высокое	Высокое	Большая	Ферменты дыхательной цепи	4	6	16	20	53
4	Низкое	Высокое	Малая	АДФ	0	14	35	40	99
5	Высокое	Высокое	0	Кислород	100	100	100	150	100

Из таблицы I видно, что степень восстановленности ферментов дыхательной цепи имеет обратную зависимость от скорости дыхания и прямую — от концентрации макроэргических соединений в митохондриях.

Во втором метаболическом состоянии, когда в митохондриях истощается фонд эндогенных субстратов, ферменты дыхательной цепи полностью окисляются. В третьем состоянии, при наличии избытка субстрата и АДФ, дыхательная цепь работает в полную мощность. В более восстановленном состоянии находятся пиридиннуклеотиды, а компоненты, расположенные ближе к кислороду, имеют меньший процент восстановленности. В четвертом метаболическом состоянии пиридиннуклеотиды почти полностью восстанавливаются, вероятно, в результате ретроградного транспорта электронов, осуществляемого за счет энергии АТФ, которая содержится в большом количестве в митохондриях.

Как отмечалось выше, митохондрии содержат полиферментный комплекс, способный окислять промежуточные метаболиты углеводов, жирные кислоты и аминокислоты. Между ферментами, осуществляющими метаболизм этих соединений, существует тесная функциональная взаимосвязь. При более детальном исследовании оказалось, что при различных функциональных состояниях митохондрий происходит переключение окислительных процессов с одного вида субстрата на другой (М.Н.Кондрашова, 1971).

В третьем метаболическом состоянии преимущественно окисляются НАД-зависимые субстраты (R.W. von Korff, 1965, 1967; G.Schafer и соавт., 1967), однако при этом происходит накопление щавелевоуксусной кислоты, которая оказывает ингибирующее влияние на сукцинатдегидрогеназу. Поэтому R.W. von Korff и G.Schafer полагают, что в активном состоянии скорость дыхания регулируется не столько свободными акцепторами фосфата, сколько диапазоном активности сукцинатдегидрогеназы.

В четвертом метаболическом состоянии, когда имеется высокая концентрация НАДН, происходит снижение концентрации ЦУК путем восстановления ее в яблочную кислоту; активность сукцинатдегидрогеназы при этом восстанавливается.

Сложные регуляторные механизмы переключения окислительных процессов регулируются не только концентрационными отношениями $АТО:АДО + Фн$, но и количественным и качественным составом эндогенных субстратов митохондрий.

Исследованиями Н.А.Ларды, Н.Веллман (1952), D.Белламу (1961), В.Chance, C. Hollunger (1961) было показано, что скорость окисления различных субстратов в митохондриях не одинакова. Между НАД-зависимыми субстратами и янтарной кислотой существует конкуренция за электронтранспортную систему митохондрий, которую при определенных ситуациях вытравляет сукцинатдегидрогеназная система (Н.А.Кrebs и соавт., 1961; М.Н.Кондратова и соавт., 1966; А.Ленинджер, 1966; В.П.Скулачев, 1969).

Качественный и количественный состав эндогенных субстратов обеспечивает регуляцию окислительных процессов митохондрий, высокую скорость эндогенного дыхания и более быстрое окисление экзогенных субстратов (В.Chance, G.R.Williams, 1955; K.Minnert, 1960; E.C.Weinbach, 1961; J.Bryla и соавт., 1967).

Принципиально новый подход к исследованию регуляции функции митохондрий детально разработан М.Н.Кондратовой. Это направление позволяет всесторонне исследовать функцию митохондрий и иметь более полное представление о состоянии биохимических процессов, происходящих в условиях целостного организма.

Фундаментом для проведения экспериментов послужило положение о том, что при всяком воздействии на организм первыми из всех субклеточных структур реагируют митохондрии и в зависимости от

силы и продолжительности воздействия митохондрии могут находиться в различных функциональных состояниях (М.Н.Кондрашова, 1967-1971).

Оказалось, что реакции митохондрий как в опытах *in vitro*, так и *in vivo* подчиняются общефизиологическим закономерностям развития реакции биологической системы в ответ на раздражение, сменяющейся фазами возбуждения и торможения (М.Н.Кондрашова, 1967, 1967а, 1968, 1969, 1970, 1971; А.Д. Виноградов, М.Н.Кондрашова, 1967).

На рисунке 4 в виде цикла представлена схема изменения функционального состояния митохондрий в зависимости от усиливающегося воздействия на организм.

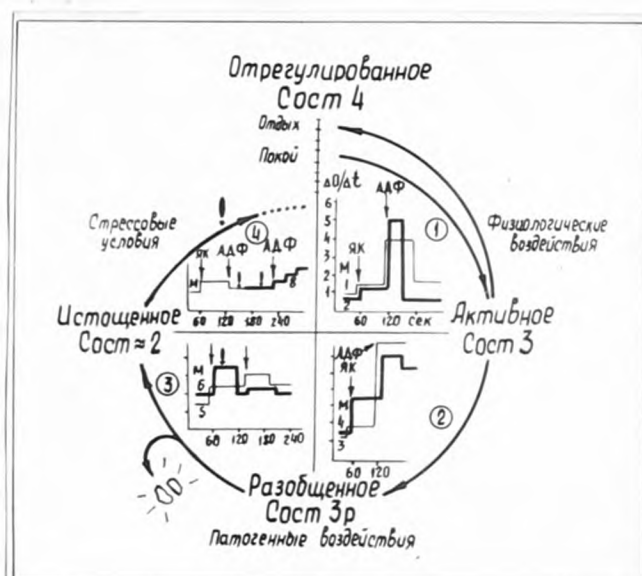


Рис. 4. Цикл изменения дыхания митохондрий при усилении воздействий, приводящих к углубляющемуся энергетическому дефициту в условиях организма и *in vitro* (по работам М.Н. Кондрашовой, 1968, 1969а, 1970).

Движение по часовой стрелке, начиная с I по IV четверти, указывает на усиление воздействия.

Пара диаграмм в каждой четверти (номера I - 8) показывает изменение ответной реакции дыхательной цепи митохондрий без субстрата и АДФ на поочередное добавление субстрата и АДФ.

В первой четверти показана реакция митохондрий в ответ на умеренные физиологические воздействия (кривые I-2). Кривая I показывает характер дыхания в покое. У таких митохондрий дыхание прочно сопряжено с фосфорилированием. Об этом свидетельствует одинаковая скорость дыхания до добавления АДФ и после его полного фосфорилирования. При физиологических воздействиях (кривая 2) митохондрии становятся лабильно сопряженными. Наблюдается умеренное разобщение окисления с фосфорилированием, что выражается в увеличении скорости дыхания после полного фосфорилирования АДФ. В таких митохондриях стимулируется скорость фосфорилирования и, несмотря на слабое разобщение, в единицу времени вырабатывается больше макроэргов, чем в прочно сопряженных митохондриях (М.Н. Кондрашова, 1970). При увеличении интенсивности и продолжительности воздействия в митохондриях выявляется разобщение дыхания с фосфорилированием, снижение скорости фосфорилирования (II четверть), ослабление реакции митохондрий на добавленную АДФ (III четверть), переходящее в ингибирование с последующим восстановлением фосфорилирования при повторных добавках АДФ (IV четверть) и нормализацией функций (М.Н. Кондрашова, 1969).

По мнению М.Н. Кондрашовой (1969), ослабление реакции дыхательной цепи на присутствие АДФ и особенно ингибирующее влияние ее на скорость дыхания являются признаками щавелевоуксусного торможения сукцинатдегидрогеназы. Ингибирование сукцинатдегидрогеназы сопровождается накоплением эндогенной янтарной кислоты и выполняет за-

цительную роль, предохраняя истощение эндогенных субстратов. После окончания воздействия накопившийся сукцинат быстро окисляется, и в короткий промежуток времени восстанавливается энергетический обмен в митохондриях (М.Н.Кондрашова, 1969, 1970, 1971).

Систематические исследования функций митохондрий в сравнении с функциональным состоянием тканей позволило сделать вывод о том, что циклические изменения метаболических состояний митохондрий являются неспецифической адаптивной реакцией в ответ на самые различные воздействия — охлаждение, интоксикация, гипоксия и др. (М.Н.Кондрашова, 1967-1970).

Представления М.Н.Кондрашовой хорошо согласуются с электронно-микроскопическими исследованиями, посвященными выявлению взаимосвязи между функциональной нагрузкой на организмы и структурными изменениями митохондрий (А.Л.Шабадаш, 1966; С.Р.Наскенброк, 1968; Е.В.Козырева и соавт., 1971; В.Ф.Машанский и соавт., 1971).

Митохондрии довольно одноотипно реагируют на различные воздействия. Накопившийся большой экспериментальный материал по этому вопросу свидетельствует о том, что охлаждение (С.Е.Северин и соавт., 1960; В.П.Скулачев, 1962), интенсивная физическая нагрузка (Н.Н.Яковлев, 1960; Р.И.Ленкова, 1968; Д.С.Саркисов, Б.В.Тюрин, 1969), лихорадочные состояния и интоксикация (Н.Н.Веселкин, 1960; Д.И.Ниселовская, 1960; А.А.Канчух, В.С.Иванова, 1969), усиление регенераторных процессов и малигнизация тканей (Е.С.Склериси и соавт., 1960; А.Граффи и соавт., 1960; Н.А.Глотов, 1967), тиреотоксикоз (С.Е.Северин, Ян Фу-юй, 1960; Р.Р.Рачев, 1969) и другие воздействия вызывают чаще всего набухание митохондрий и разобщение дыхания с синтезом АТФ.

Структурные изменения митохондрий сопровождаются либо набуханием, либо сокращением митохондрий, при этом изменяется про-

проницаемость мембран. Набухание может быть пассивным, зависящим от осмотического давления среды, и активным, обусловленным интенсивностью нагрузки на дыхательные переносчики и концентрацией эндогенных макроэргических соединений в митохондриях (D. Neubert и соавт., 1962; А.Ленинджер, 1962, 1964). Изменение объема митохондрий осуществляется актомиозиноподобным белком, который был выделен из гранул печени (С.А.Нейфах, 1964). Высокий уровень эндогенного АТФ вызывает сокращение и уменьшение проницаемости мембран митохондрий для субстратов дыхания. Вслед за этим снижается уровень окислительных процессов и концентрация АТФ. Конформация актомиозина изменяется, что сопровождается набуханием и улучшением проницаемости мембран митохондрий для субстратов дыхания. Последующее усиление окислительных процессов и увеличение концентрации эндогенного АТФ вызывает сокращение митохондрий (Т.Б.Казакова, 1965).

Таким образом, одним из важнейших механизмов регуляции функционального состояния митохондрий является контрактильный механизм изменения проницаемости митохондриальных мембран для субстратов дыхания, обусловленный интенсивностью окислительных процессов и концентрацией эндогенного АТФ. В свою очередь, интенсивность и направленность окислительных процессов во многом определяются происхождением субстратов окисления, концентрационными соотношениями эндогенных метаболитов, наличием или дефицитом восстановленных дыхательных переносчиков.

Наличие определенного фонда эндогенных субстратов, особенно янтарной кислоты, способствует более быстрой ликвидации энергетического дефицита, наблюдаемого в период экстремальных воздействий на организм. Ответная реакция со стороны тканей организма при этом зависит от силы и продолжительности воздействия. Усиление энергетического дефицита, наблюдаемого в экспериментах как *in vivo*, так

in vitro , является причиной утраты энергетического типа регуляции и заменой его субстратной регуляцией с выраженным щавелевоуксусным торможением окисления сукцината.

Одним из самых мощных воздействий, которое может вызвать энергетический дефицит в тканях организма, а следовательно, и перестройку функционального состояния митохондрий, является гипоксия.

3. ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ТКАНЯХ

Гипоксическое состояние может быть следствием воздействия на организм самых различных факторов внешней среды: недостатка кислорода во вдыхаемом воздухе, отравления химическими соединениями, попавшими в организм через легкие, кожу или желудочно-кишечный тракт; увеличения потребности в кислороде при интенсивной физической нагрузке, при аварийных ситуациях во время высотных полетов и т.д. Недостаток кислорода в организме может быть не только при заболеваниях легких и сердечно-сосудистой системы, но и при многих других патологических состояниях: анемиях, нарушениях функции нервной и эндокринной систем и т.д. (И.Р.Петров, 1952, 1967). Весьма разнообразны механизмы и классификация гипоксических состояний (Э.Ван Лир, К. Стикней, 1967). В настоящее время общепринято делить гипоксии на гипоксическую, гемическую, циркуляторную и тканевую (гистотоксическую, или клеточную, Е.Ф.Котовский, Л.Л.Шимкевич, 1971).

Какова бы ни была этиология гипоксии, в первую очередь при этом страдают аэробные окислительные процессы, нарушаются энергетический обмен и функции многих органов и тканей организма. Компенсаторно увеличивается скорость реакций гликолиза. Однако аэробные окислительные процессы не в состоянии обеспечить организм достаточным количеством энергии, что приводит к снижению уровня АТФ и

повышению концентрации АДФ (Е.М.Крепс и соавт., 1954; В.С.Шапот и соавт., 1954; W.Thorne и соавт., 1955; А.В.Захарова, 1962), а также к накоплению в тканях организма недоокисленных продуктов обмена: пировиноградной, молочной, β -оксимасляной и ацетоуксусной кислот (М.И.Петухов, 1960; Ф.Е.Путимина, 1965; F.I.Feinen, 1955; Т.Н.Протоद्याконова, 1969).

Многие исследователи полагают, что стимуляция анаэробных окислительных процессов при гипоксии является основным адаптационным механизмом на клеточном уровне, и не уделяют серьезного внимания перестройкам ферментных систем тканевого дыхания, полагая, что гликолиз и другие общефизиологические компенсаторные механизмы, такие, как увеличение легочной вентиляции и скорости кровотока, перераспределение крови, стимуляция эритропоэза и т.д., способны обеспечить энергетические потребности организма (Я.Г.Вольфинзон, 1961).

Однако, как убедительно показано К.Л.Ивановым (1968), аэробные организмы не в состоянии обеспечить себя энергией за счет гликолитических реакций сколько-нибудь длительное время. Если организм, обычно живущий в среде, содержащей кислород, поместить в анаэробные условия, то для более или менее полного удовлетворения энергетических потребностей понадобится бы огромное количество питательных веществ, обеспечение которыми невозможно за счет деятельности желудочно-кишечного тракта и других транспортных систем организма.

Кроме того, исследованиями последних лет показано, что из всех клеточных органелл митохондрии первыми отвечают изменением своего функционального состояния на все воздействия, которые затрагивают в той или иной степени энергетический обмен (М.Н.Кондрашова, 1969, 1970).

Это положение подтверждается электронно-микроскопическими

исследованиями многих авторов. Митохондрии очень чувствительны к недостатку кислорода: уже через три минуты после перевязки веточки коронарного сосуда ультрамикроскопически наблюдается резкое набухание митохондрий сердечной мышцы в ишемическом участке, а через 20-30 минут происходит разрушение их структуры (Г.М.Франк, 1964; Ю.С.Чечулин, Глаголева, 1964). С.М.Sund и соавт. (1969) показали наличие гигантских митохондрий в миокарде при гипоксии. Однако другие исследователи (R.E.Ekholm и соавт., 1968) не нашли никаких изменений в ультраструктуре митохондрий сердца при перевязке коронарных артерий. Различия в приведенных данных вероятнее всего обусловлены неодинаковыми условиями экспериментов, а именно, разной степенью гипоксии и нарушения коронарного кровообращения.

С опытами, где наблюдались морфологические изменения ультраструктуры митохондрий при гипоксии, хорошо согласуются результаты исследований, которые посвящены изучению функционального состояния митохондрий.

Изучению тканевого дыхания при кислородном голодании посвящено большое количество работ. Изменения ультраструктуры митохондрий сопровождаются определенными сдвигами и в их дыхательной активности. Если после кратковременной гипоксии наблюдается активация дыхания (В.А.Энгельгардт, 1932) и окислительного фосфорилирования (В.С.Шапот, 1952; В.С.Шапот, К.Р.Громова, 1954), то анаэробизм в течение более 30 минут сопровождается сильным угнетением этих процессов (G.J.Furman и соавт., 1950; A.P.Sanders и соавт., 1965; H.Rochman, 1967, 1967a). В опытах *in vitro* даже незначительное уменьшение концентрации кислорода в инкубационной среде влечет за собой угнетение дыхания в срезах мозга, печени и особенно почек (I.Scolnik и соавт., 1966).

Наиболее выраженные изменения со стороны функционального состояния митохондрий имеют место при нарушении кровообращения, вызванного перевязкой кровеносных сосудов, которая сопровождается тяжелыми формами гипоксии (N. Kimura, N. Nishimura, 1956; K.E. Moor, T.M. Brody, 1960; A.Г.Хмелько, 1960). Так, например, при острой циркуляторной гипоксии отмечено значительное снижение потребления кислорода митохондриями печени и мозга (А.И.Назаренко, 1970), довольно быстрое угнетение активности сукцинатдегидрогеназы и цитохром С-оксидазы в гранулах печени (А.А.Покровский и соавт., 1969) и гомогенатах коркового слоя почек (M. Howard и соавт., 1970). Через 5 часов после инфаркта миокарда происходило снижение не только аэробных, но и анаэробных окислительных процессов в мышце сердца (S. Gudbjarnason и соавт., 1968). Однако в опытах R. Ekholm и соавт. (1968) при перевязке коронарных артерий на 10-20 минут не было найдено каких-либо изменений в скорости потребления кислорода и в активности цитохромоксидазы в митохондриях сердечной мышцы.

Интенсивная физическая нагрузка является одной из частых причин развития кислородного дефицита в организме. Изучение тканевого дыхания в мышечной ткани при интенсивной работе показало увеличение скорости эндогенного дыхания и окисления добавленных субстратов с одновременным повышением коэффициента фосфорилирования (J.Z. Glick, 1966). При этом увеличивается и потребление кислорода митохондриями, выделенными из печени крыс, предварительно подвергнутых нагрузке во вращающемся колесе (J.L. Glick и соавт., 1964). Противоположные результаты получены Н.Р.Чаговец (1959, 1971): при интенсивной физической нагрузке на животное в митохондриях скелетных мышц происходило ингибирование общей дегидрогеназной и АТФ-азной активности и снижение сопряженности дыхания с фосфор-

илированием. Снижение активности тканевых дыхательных ферментов выявлено гистохимически при фибрилляции миокарда (В.А.Фролов и соавт., 1966).

Выраженные изменения в характере аэробных окислительных процессов наблюдаются при гипоксической гипоксии. Так, Э.К.Сулимо-Самуило (1952) обнаружил снижение эндогенного дыхания срезов печени, почек и мозга морских свинок, которые предварительно находились в течение 1-3 часов в барокамере с разрежением воздуха, соответствующим высоте 8000 метров, однако активность цитохромоксидазы при этом повышалась. Уменьшение интенсивности тканевого дыхания при тех же условиях опытов наблюдалось в срезах сердца (В.А.Никонова и соавт., 1966) и митохондриях головного мозга (М.М.Эпштейн и соавт., 1968) и миокарда (Т.Н.Протодряконова, 1969); однако ряд авторов наблюдал стимуляцию сукцинатоксидазной системы (D.V.Tarpan и соавт., 1957a) и увеличение скорости дыхания в митохондриях, выделенных из печени крыс, находившихся в течение суток в барокамере на "высоте" 8000 м. Одновременно отмечалось снижение коэффициента фосфорилирования и стимуляция аденозинтрифосфатазной активности (B.D.Nelson и соавт., 1967).

Выраженные изменения со стороны аэробных окислительных процессов митохондрий выявлены у животных, находившихся в замкнутом пространстве эксикатора (А.С.Баркисова и соавт., 1969), в атмосфере, содержащей 7% кислорода (I.M.Lemley, G.K.Meneely, 1952).

Изменения со стороны тканевого дыхания, вызванные недостатком кислорода в организме, влекут за собой сдвиги и в характере окислительного фосфорилирования. Так, по мнению В.П.Скулачева (1962), недостаток кислорода является причиной переключения свободного дыхания на фосфорилирующее с одновременным повышением коэффициента $P:O$. Этой точке зрения противоречат данные E.H.Strickland и соавт.

(1961, 1963), не обнаруживших при гипоксии каких-либо изменений в окислительном фосфорилировании. При резком нарушении снабжения кислородом, например, при перевязке сонных артерий (Н.Г.Громова, 1960), ушибе мозга и инфаркте миокарда (Л.Л.Хачатрян, 1964), происходит разобщение дыхания с фосфорилированием. В этом аспекте значительный интерес представляют результаты (R.E.Moore, T.M.Wrody, 1960), которыми показано, что в митохондриях, выделенных из печени спустя два часа после перевязки кровеносных сосудов этого органа, разобщение дыхания наблюдается тогда, когда в качестве субстратов дыхания применяли пировиноградную, α -кетоглутаровую и β -оксимасляную кислоты; с сукцинатом и глутаматом коэффициент фосфорилирования не отличался от такового у контрольных животных.

В литературе имеются сведения и о том, что острая гипоксия не влияет на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях. Так, Б.М.Копытин (1952) не выявил никаких изменений со стороны тканевого дыхания при различных видах гипоксии. Сходные результаты получены А.И.Назаренко и В.А.Березовским (1969). Эти авторы не нашли нарушений в окислительных процессах спустя один час после перевязки венозных и артериальных сосудов печени. Высокая резистентность функциональной активности митохондрий печени, почек и головного мозга крыс продемонстрирована в опытах с пребыванием животных в течение 50-105 минут в атмосфере, содержащей 5% кислорода (A.P.Sanders и соавт., 1965a).

Противоречивость данных литературы об изменении функционального состояния митохондрий при различных видах гипоксии обусловлена по крайней мере двумя факторами: во-первых, использованием разных субстратов дыхания при одинаковом типе и степени кислородного голодания и, во-вторых, разницей в глубине и продолжительности кислородного голодания.

Последнее положение могут иллюстрировать эксперименты, свидетельствующие о том, что кратковременная интенсивная физическая нагрузка способствует росту АТФ-азной активности в мышцах. Однако более длительная нагрузка, сопровождающаяся утомлением, снижает активность этого фермента (А.Ф.Макарова, 1958; Н.Р.Чаговец, 1959, 1971).

Различия в данных литературы становятся еще более понятными, если к их анализу подходить с позиций М.Н.Кондрашовой. Согласно ее взглядам, функциональное состояние митохондрий зависит от силы и продолжительности воздействия. При переходе от покоя в активное состояние происходит смена субстратов окисления: углеводы — жирные кислоты — сукцинат (М.Н.Кондрашова, М.А.Родионова, 1969; М.Н.Кондрашова, 1970).

Особый интерес для клинической медицины представляют работы, посвященные изучению тканевых приспособительных механизмов к условиям хронической кислородной недостаточности. Эта проблема важна также для решения общебиологических закономерностей адаптации организма к различным внешним воздействиям. За последние годы появились работы, свидетельствующие о том, что адаптированный к гипоксии организм становится более лабильным, легче приспособливается к внешним воздействиям и хорошо переносит интенсивные нагрузки (Н.Н.Сиротинин, 1958; Э.Ван Лир и соавт., 1967; Г.И.Гурвич, 1967; В.Н.Черниговский, 1968; Ф.З.Меерсон, 1970).

В период адаптации к кислородному голоданию происходит перестройка многих физиологических функций организма в направлении максимального снабжения кислородом тканей организма. Наблюдается увеличение легочной вентиляции, перераспределение крови и улучшение снабжения жизненно важных органов (З.И.Барбашова, 1960, 1964, 1966, 1967, 1971; М.И.Гурвич, С.А.Берштейн, 1966, 1967;

К.П.Иванов, 1968; Н.Е.Маршак, 1969), повышается сродство гемоглобина к кислороду, стимулируется эритропоэз и увеличивается количество гемоглобина в крови (D.V.Таррап и соавт., 1957), миоглобина в скелетных и сердечной мышцах, что увеличивает в них депо кислорода (D.V.Таррап и соавт., 1957a; З.И.Барбашова, 1960; Э.Ван Лир, К.Стикней, 1967; В.Н.Карнаузов, 1969; L.E.Costa и соавт., 1970).

Среди тканевых адаптационных к гипоксии механизмов решающее значение отводится функциональным изменениям митохондрий (З.И.Барбашова, 1963; М.Н.Кондрашова, 1970). По мнению З.И.Барбашовой (1960, 1963), изменения в структуре и функции митохондрий направлены на более полное использование кислорода при его низком парциальном давлении. Согласно данным этого автора, в процессе адаптации к гипоксии увеличивается сродство ферментов с субстратами, в частности цитохромоксидазы к кислороду, поэтому при низком его парциальном давлении гомогенаты различных органов и тканей животных, адаптированных к условиям гипоксии, дышат интенсивнее по сравнению с гомогенатами контрольных животных. Это обусловлено повышением активности цитохромоксидазы, сукцинатдегидрогеназы и других дыхательных ферментов. Эти же гомогенаты в атмосфере кислорода, в воздухе дышали одинаково с контрольными. Многие авторы отмечают, что гомогенаты и митохондрии, выделенные из тканей животных, адаптированных к дефициту кислорода, обладают высокой дыхательной и фосфорилирующей активностью (I.C. Strickney и соавт., 1953; W.V. Whitehorn и соавт., 1953; R.Clark и соавт., 1954; Е.Н.Крепс и соавт., 1956, 1956a; I.R.Hill , 1959; Е.Н.Strickland и соавт., 1961, 1962; F.D.Ziegler , 1967).

Увеличение активности ферментов тканевого дыхания при хронической гипоксии выявлено и другими исследователями. Так, например, ряду авторов удалось зарегистрировать увеличение активности НАДН:

цитохром с-оксидоредуктазы (B.Reynafarje , D.Green , 1960), сукцинатоксидазной системы, аденозинтрифосфатазы, цитохром с-оксидазы (D.V.Tarpan и соавт., 1957a), изоцитрико-глутамат-, α -кетоглутарат - и малат - дегидрогеназ (B.M.Хмелевский, 1966; I.O.Holloszy и соавт., 1970) в печени, скелетных и сердечной мышц, адаптированных к гипоксии животных.

Большинство авторов считает, что стимуляция активности дыхательных ферментов при адаптации к кислородному голоданию обусловлена повышением их количества в митохондриях (D.V.Tarpan и соавт., 1957, 1957a; L.Costa и соавт., 1970; I.O.Holloszy и соавт., 1970)

Отдельные авторы не нашли никаких изменений в поглощении кислорода тканями у животных, адаптированных к гипоксии (I.C.Strickney, Van Liere , 1953; R.Clark и соавт., 1954); более того, при тренировках к более глубокой гипоксии наблюдалось угнетение дыхания и разобщение окислительного фосфорилирования (M.M.Duckworth , 1961; E.H.Strickland и соавт., 1961, 1962; B.D.Nelson и соавт., 1967; F.D.Ziegler , 1967).

Изучение динамики изменения окислительных процессов во время адаптации к гипоксии у разных поколений белых мышей показало, что у первых двух поколений эти процессы повышены, в то время как у восьмого и одиннадцатого поколений они нормализуются в связи с повышением сопряженности дыхания с фосфорилированием и более экономным расходом энергетических ресурсов организма (Н.А.Верби́нская, 1962).

Интересные закономерности в виде колебательных изменений характера окислительного фосфорилирования в саркосомах миокарда выявляются при акклиматизации крыс к длительной гипоксии: в течение первых десяти дней происходит снижение окислительных процессов с последующей нормализацией их к двенадцатому дню и повторным угне-

тением, начиная с 30-40 суток (Н.В.Хавкина, 1969). Подобные данные были получены и другими авторами (Н.А.Росоловский и соавт., 1969).

Раньше полагали, что при затруднении реализации аэробных окислительных процессов основным поставщиком АТФ являются реакции гликолиза. Однако за последние годы были выявлены другие возможности регенерации АТФ при гипоксии, которые по своей интенсивности превосходят гликолиз. Высказывается положение о том, что при дефиците кислорода роль гликолиза сводится к обеспечению реакций цикла Кребса метаболитами (М.Н.Кондрашова, 1969).

В условиях гипоксии может изменяться последовательность реакций цикла Кребса; при этом реализуются те этапы цикла трикарбоновых кислот, в которых происходит регенерация АТФ (М.Н.Кондрашова, 1970, 1971). Один из таких этапов связан с субстратным фосфорилированием при окислении *L*-кетоглутарата в янтарную кислоту.

Известно (G.Michael и соавт., 1959; J.L.Glick, 1966; М.М.Эштейн и соавт., 1966; R.Schoitz и соавт., 1969), что в условиях гипоксии имеется дефицит окисленного НАД. При такой ситуации окисление НАД-зависимых субстратов затруднено (В.В.Хмелевский, 1966; Н.Д.Ещенко и соавт., 1969), поэтому преимущественно окисляется янтарная кислота, являющаяся основным источником энергии. Помимо этого, при окислении янтарной кислоты может происходить ретроградный транспорт электронов с включением первого пункта фосфорилирования (М.Н.Кондрашова, 1971).

Окисление восстановленного НАД при гипоксии может происходить в реакции восстановления фумаровой кислоты в сукцинат (Н.Д.Нобельма L.Prosky, 1967; М.Н.Кондрашова, 1968, 1969) в связи с тем, что фумарат обладает высокими электроакцепторными свойствами (В.Х.Мак Шен, 1952; L.Seidman и соавт., 1961; H.J. Wollin и соавт., 1961). Осуществление фумаратредуктазной реакции может

сопровождаться синтезом АТФ в первом пункте фосфорилирования даже в условиях анаэробноза (D.R. Sanadi и соавт., 1963; D.W. Naas , 1964; М.Н.Кондрашова, 1968; R.I.Faust и соавт., 1970). Синтез АТФ при гипоксии возможен и при обращении трандегидрогеназной реакции (M. Klingenberg , 1963).

В регуляции функциональной деятельности митохондрий придается большое внимание концентрации эндогенных субстратов (K.V. von Korf , 1965, 1967; I.Schäfer и соавт., 1967; М.Н.Кондрашова, М.А.Родионова, 1969). В литературе в достаточной мере освещены вопросы, касающиеся содержания метаболитов, связанных с анаэробной фазой окисления при гипоксии.

Однако количественные изменения метаболитов цикла Кребса при дефиците кислорода в организме изучены недостаточно. Имеются единичные работы, где изучалось содержание янтарной кислоты в тканях в опытах *in vivo* (М.Н.Кондрашова, 1971; Е.И.Маевский, 1970). Сведений об изменении концентрации важнейших метаболитов цикла Кребса, таких, как щавелевоуксусная и α -кетоглутаровая кислота, при дефиците кислорода в организме нами не обнаружено.

В связи с тем, что основные метаболические превращения глутаминовой кислоты осуществляются через цикл Кребса и тесно связаны с его важнейшими промежуточными продуктами — α -кетоглутаратом, сукцинатом и щавелевоуксусной кислотой, следовало ожидать, что глутамат в условиях гипоксии может изменять функциональное состояние митохондрий.

4. ВЛИЯНИЕ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ОРГАНИЗМЕ

Обмен глутаминовой кислоты в организме

Обмен глутаминовой кислоты занимает ключевые позиции в метаболизме белков, углеводов, жиров и ряда других веществ организма

(А.Е.Браунштейн, М.Г.Крицман, 1937, 1937а; А.Е.Браунштейн и соавт., 1944; A.F. D'Adamo, D.F.Haft, 1965; А.Ленинджер, 1966). Эта аминокислота оказывает существенное влияние на функцию нервной (I.M. Mc Kham, D.B.Tower, 1959; И.Б.Острцова, И.А.Сытинский, 1962; Г.Х.Бунятян, 1960, 1963) и эндокринной систем (W.A.Himvish, T.M.Petersen, 1954; H. Kohl, 1954; J.Gever, V.Klingmiller, 1955; А.С.Оганесян, 1961; Н.А.Удинцев, 1969) и способствует синтезу ацетилхолина (D.M. Nachmansohn, H.M. John, 1943, П.А.Кометиани, 1951; C. Klotzsch, 1956). Поэтому не случаен интерес многих авторов к изучению различных метаболических путей превращения глутаминовой кислоты в организме.

Изучение количественного состава свободного глутамата в различных органах и тканях выявило высокое содержание его по сравнению с другими аминокислотами. Так, например, в сером веществе головного мозга различных животных определено в среднем 150 мг% глутаминовой кислоты, в белом — 80 мг%, в селезенке — 88 мг%, в почках — от 70 до 137 мг%, в печени — 66 мг% (В.В.Мамаева, 1955; А.Майстер, 1961; Е.Э.Клейн, 1956).

Основные метаболические превращения глутаминовой кислоты связаны с реакциями переаминирования с кетокислотами (А.Е.Браунштейн, 1949; P.Borst, E.C. Slater, 1960), окислительного дезаминирования (I.M.Tager, E.C. Slater, 1963) и декарбоксилирования (I.Awarara и соавт., 1950; E.Roberts, S.Frankel, 1950, 1950a, 1951, 1951a).

В процессах переаминирования важную роль играет система дикарбоновых кислот — глутаминовая, α -кетоглутаровая, аспарагиновая и павелевоуксусная кислоты. В системе дикарбоновых кислот особое положение глутаминовой кислоты определено не только количественным содержанием и легкостью ее превращений в тканях (А.Е.Браунштейн,

1949, 1950; Н.А.Кrebs и соавт., 1949; L. Cidrangolo, 1959; А.Ленинджер, 1966), но и тем, что с участием названной кислоты может обмениваться более 50% азота белковой молекулы (А.Е.Браунштейн, 1949а). Отсюда — ее роль как регулятора обмена белков, углеводов и окислительных процессов во всех органах и тканях (М.Г.Крицман, С.С.Мелик-Саркисян, 1948; А.Е.Браунштейн, 1949, 1960, 1967; Е.Э.Клейн, 1954, 1956; И.А.Сытинский, 1970).

Реакции переаминирования глутаминовой кислоты лучше всего идут со щавелевоуксусной кислотой. При этом образуется эквивалентное количество аспарагиновой кислоты (Н.А.Кrebs, 1960). Изучение обмена глутаминовой кислоты (Р.Ворст, Е.С.Слатер, 1959, 1960) показало, что превращение ее в аспарагиновую ингибируется малонатом в митохондриях печени на 70% и почти полностью (на 95,6%) — в саркомах сердечной и скелетных мышц. Торможение снималось добавлением фумарата и малата, которые являются источниками образования щавелевоуксусной кислоты, необходимой для переаминирования с глутаматом. Накопление α -кетоглутаровой кислоты при этом не происходит в связи с тем, что она, вовлекаясь в лимоннокислый цикл, превращается в щавелевоуксусную кислоту (D.E.Tiply, 1949; I.L.Still и соавт., 1950; Р.Ворст, Е.С.Слатер, 1960; I.M.Tager, Е.С.Слатер, 1963).

Таким образом, при окислении глутаминовой кислоты в реакциях трансаминирования происходит шунтирование цикла Кребса с исключением тех его этапов, которые предшествуют образованию α -кетоглутаровой кислоты. При этом следует отметить, что реализация последующей части цикла, начиная с α -кетоглутарата до щавелевоуксусной кислоты, осуществляется с повышенной скоростью (Т.М.Броду, Т.А.Брейн, 1952; Р.Ворст, 1962; В.С.Идджерот, Т.С.Халл, 1965) и с увеличением синтеза аденозинтрифосфорной кислоты (В.И.Иванов, П.А.Розенберг,

1955; G.H. Mc.Khann, D.B.Tower , 1959; В.З.Характер, 1963).

Другой путь окисления глутаминовой кислоты осуществляется в реакциях окислительного дезаминирования под действием фермента глутаматдегидрогеназы, которая локализована в митохондриях (G.H.Hogeboom , G.C.Schneider , 1953). Глутаматдегидрогеназа наиболее активна в митохондриях печени (P.Borst , 1962) и почек (А.С.Аронесян, Д.З.Григорян, 1970), меньшая ее активность определяется в саркомерах сердечной и грудной мышц голубя (P.Borst : 1962) и в гранулах мозга (Р.Г.Камалян, С.Г.Мавсеев, 1966). Однако превращение глутаминовой кислоты в реакциях окислительного дезаминирования идет в небольших количествах. Так, в свежевыделенных митохондриях до 90% глутамата переходит в аспарагиновую кислоту и лишь 10% подвергается окислительному дезаминированию с выделением свободного аммиака (R.I.Naslam, H.A.Krebs , 1963; Р.Г.Камалян, С.Г.Мавсеев, 1966). Выделенная из митохондрий печени глутамат - павелевоуксусная - аминотрансфераза в 9 раз активнее глутаматдегидрогеназы (L.A.Fahien, M. Strmecki , 1969). В стареющих митохондриях доля окисления глутаминовой кислоты в глутаматдегидрогеназной реакции увеличивается (E.J. De Haan¹ и соавт., 1964).

Существует тесная функциональная взаимосвязь между различными метаболическими превращениями глутаминовой кислоты.Е.Ким и соавт., (1964)предполагают наличие единой системы окисления глутамата, которая включает глутаматдегидрогеназу, глутамат:павелевоуксусную и глутамат:винниградную-аминотрансферазы. Применение специфических ингибиторов подавляет активность одного из указанных ферментов и блокирует начальное окисление глутаминовой кислоты в митохондриях.

При перфузии раствора меченой C^{14} -глутаминовой кислоты через перозивающую печень более 50% меченого углерода выделяется в виде углекислого газа, значительная часть глутамата превращается в

глюкозу и ацетил-КоА, в то время как у животных, лишенных пищи, включение радиоактивного изотопа глутаминовой кислоты в глюкозу удваивается (A.F.D'Adamo, D.E.Naft, 1965). В присутствии глюкозы 20-30% 2- C^{14} и 5- C^{14} глутамата обнаруживается в жирах (Madsen и соавт., 1964).

Значительный интерес для теоретической и практической медицины представляют опыты, в которых исследовалось влияние глутаминовой кислоты на углеводный обмен в условиях целостного организма. Введение глутаминовой кислоты сопровождается увеличением уровня сахара в крови у кроликов (I.C.Petersen и др., 1955). В дозе 120 мг на крысу эта аминокислота поддерживает гипергликемию в течение трех часов (A.Szigeti, 1969). Более детальные исследования механизма гипергликемического действия глутамата показали, что этот эффект является результатом стимуляции функции гипофиз-адреналовой системы и усиления глюконеогенеза (R.Marcus, G.Reaven, 1967). Вероятно, гипергликемический эффект глутаминовой кислоты обусловлен не только за счет непосредственного превращения глутамата в глюкозу, как показано A.F.D'Adamo, D.E.Naft (1965), но и в результате стимуляции глюконеогенеза и расщепления гликогена печени. Это подтверждается исследованиями R.Marcus, G.Reaven (1967), которые установили, что глутаминовая кислота не вызывает гипергликемии у адреналэктомированных животных. Помимо этого, имеются сведения и о том, что названная аминокислота увеличивает содержание адреналина в крови (H.Well-Malerbe, 1952, 1955; Himwish, I.M.Petersen, 1954; H.Kohl, 1955), который оказывает гипергликемический эффект.

В дальнейших исследованиях было установлено стимулирующее влияние глутаминовой кислоты на функцию коры надпочечников. И.А.Удинцев и Д.А.Астафьев (1966) в опытах на морских свинках, определяя кортикостероидные гормоны в оттекающей от надпочечников

крови, обнаружили увеличение их количества после введения глутаминовой кислоты. Подобные результаты были получены в опытах *in vitro*, когда добавки глутамата к гомогенатам надпочечников была значительно увеличивали синтез кортикостероидов (И.А.Удинцев, Э.З. Наугольных, Н.С.Кокорева, 1966, 1966а). Через 1-2 часа после внутривенного введения 10 мл 10% раствора глутамата кальция у больных пневмосклерозом концентрация кортикостероидных гормонов в крови увеличивается с 16,4 до 26,3 мкг% (И.П.Замотаев и соавт., 1966).

При исследовании механизма стимуляции функции коры надпочечников оказалось, что глутаминовая кислота повышает стероидогенез путем активации некоторых ферментов цикла Кребса (И.А.Удинцев, 1968).

Имеются данные литературы, которые свидетельствуют о том, что глутаминовая кислота способна повышать функцию щитовидной железы, ранее угнетенной под действием гипоксии (М.С.Волков, 1966).

Обмен глутаминовой кислоты в центральной нервной системе имеет свои особенности. Наряду с реакциями окислительного дезаминирования и переаминирования в нервной системе глутаминовая кислота подвергается декарбоксилированию с превращением ее в γ -аминомасляную кислоту (ГАМК).

Мозговая ткань содержит высокоактивную декарбоксилазу глутаминовой кислоты. Наибольшая активность этого фермента определяется в митохондриях серого вещества мозга (E.Roberts, S.Frankel, 1951, 1951a; E.Gründing, R.Brethschneider, 1959).

Впервые образование ГАМК из глутаминовой кислоты было показано в работах E.Roberts, S.Frankel (1950) и Awaraga (1950). В опытах *in vivo* с меченой C^{14} -глутаминовой кислотой ими было установлено, что наибольшая удельная радиоактивность определяется в γ -аминомасляной кислоте (E.Robert, S. Frankel, 1950a).

Изучению механизма действия и значения γ -аминомасляной кислоты для центральной нервной системы посвящено большое количество работ. Однако до настоящего времени нет единого мнения по вопросу о роли ГАМК в функции центральной нервной системы. Одни исследователи полагают, что γ -аминомасляная кислота оказывает угнетающее действие на передачу нервного возбуждения в синапсах центральной и периферической нервной системы (А.Ваземогге и соавт., 1956; D.P. Purpura и соавт., 1957; E. Florey и соавт., 1958; С.М.Вередагин и соавт., 1960, 1961; Г.Е.Владимиров, И.А.Сытинский, 1961), считая, что γ -аминомасляная кислота выполняет роль медиатора нервной системы (А.А.Галоян, 1965; Е.Робертс, 1967).

Другие исследователи отрицают медиаторную роль ГАМК в нервной деятельности, полагая, что основное значение этой аминокислоты определяется ее участием в энергетическом обмене клеток мозга (E.Gründing и соавт., 1959; I.M. Mc Khann, D.W. Tower, 1959) путем превращения γ -аминомасляной кислоты в янтарный полуальдегид, который, окисляясь в цикле Кребса, стимулирует дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях мозга (Н.С.Нилова, 1966, 1966а; П.А.Кометиани, 1967). В этом аспекте большой интерес представляют исследования М.Н.Кондрашовой (1969, 1970), в которых показано значение образования янтарной кислоты из γ -аминомасляной в биоэнергетике митохондрий.

Несколько в ином плане рассматривает участие ГАМК в регуляции функции нервной системы Г.Х.Бунятян (1960, 1967). Автор полагает, что изменение проницаемости клеточных мембран мозга для глюкозы является основным фактором в механизме регуляции γ -аминомасляной кислотой окислительных процессов и функционального состояния нервной системы. Высокие концентрации γ -аминомасляной кислоты порядка 0,5 мкм/мл, уменьшая проницаемость клеточных мембран для глюко-

зы, снижают уровень окислительных процессов в мозгу, что является причиной наступления тормозного процесса в нервной системе. Более низкие концентрации γ -аминомасляной кислоты ($0,01-0,001$ мкм/мл) не только увеличивают проницаемость этих мембран (В.Б.Егян, 1961), но и стимулируют окисление пирувата в цикле Кребса (Г.Х.Бунятян, 1963).

Действие γ -аминомасляной кислоты на проницаемость клеточных мембран проявляется не только в центральной нервной системе. Так, С.Г.Мовсеян (1961) установил, что низкие концентрации этой аминокислоты (10^{-7} M) повышают проницаемость глюкозы через клеточные мембраны мышечной и хрящевой тканей. Если учесть, что декарбоксилаза глутаминовой кислоты, хотя и менее активная, содержится помимо нервной системы в других органах и тканях (E.Roberts, S.Frankel, 1950, 1951a) и что образование γ -аминомасляной кислоты может происходить с участием всех изоферментов лактатдегидрогеназы (W.N.Fischbein, S.P.Bessman, 1964), то γ -аминомасляную кислоту можно считать одним из веществ, регулирующих проницаемость клеточных мембран организма.

Глутаминовая кислота занимает ведущее место в обезвреживании аммиака, который является токсичным и выделяется в значительных количествах в процессе физиологической деятельности организма (А.Е.Браунштейн, 1950; Е.А.Владимирова, 1950, 1954, 1957, 1963; Г.Е.Владимиров, 1954; Н.В.Веселкин, Б.Г.Гордон, 1953, 1955; Р.Врба, 1956).

Обезвреживание аммиака в тканях организма происходит путем синтеза глутамина (Д.Л.Фердман, 1950, 1967; Д.Л.Фердман, С.Ф.Эпштейн, 1950; З.С.Гершеневич и соавт., 1960). Многие исследователи считают, что синтез глутамина является одним из интенсивных биохимических процессов (Г.Ач и соавт., 1953; Meister и соавт., 1962),

с помощью которого устраняется избыток аммиака в тканях организма.

Повышение концентрации аммиака может сопровождаться угнетением аэробных окислительных процессов в мозгу, которое выражается в накоплении молочной и пировиноградной кислот. Параллельно этому снижается активность цитохромоксидазы и сукцинатдегидрогеназы. Введение в организм животных глутаминовой кислоты снимает указанные изменения (У.С.Тарве, 1963). В этом аспекте заслуживают внимания работы (В.А.Энгельгард, А.А.Баев, 1936; М.А.Белогорский, 1949; Г.Г.Стуруа, 1954; В.С.Шапот, К.Г.Громова, 1954), которыми показано, что в условиях гипоксии в организме увеличивается выделение аммиака. В свою очередь аммиак, связывая один из важнейших метаболитов цикла Кребса — α -кетоглутаровую кислоту, ингибирует дыхание (А.Е.Браунштейн, 1959; Katunuma, Nobuchiko, 1963; А.Ленинджер, 1966).

Таким образом, различные метаболические превращения глутаминовой кислоты можно назвать своеобразными "шунтами", которые обеспечивают тесную взаимосвязь обмена белков, углеводов и жиров в организме. При этом она выступает как регулятор аэробных окислительных процессов в митохондриях и участвует в деятельности нервной и эндокринной систем организма.

Активное участие глутаминовой кислоты в аэробных окислительных процессах послужило своеобразным сигналом для применения этой кислоты в качестве средства, способного улучшать нарушенные окислительные процессы в организме.

Влияние глутаминовой кислоты на окислительные процессы при гипоксии

Интерес к изучению механизма действия глутаминовой кислоты на обменные процессы при гипоксии возрос в связи с тем, что эту аминокислоту за последние годы стали широко применять в комплексной

терапии заболеваний, сопровождающихся недостатком кислорода в организме. Ее применяют как средство борьбы с гипоксией при сердечно-сосудистых заболеваниях (В.Русских, 1956; S.Nitschhoff и соавт., 1956; З.В.Горбунова и соавт., 1960; Т.Э.Вогулкина и соавт., 1965; Т.Э.Вогулкина, 1966, 1968), пневмосклерозах и пневмонии (И.П.Замотаев, 1966, 1966а, 1967, 1968; Н.П.Демченко, 1969, 1969а, 1970), как профилактическое средство против асфиксии плода при патологических родах (Н.Н.Горлова, 1960; Л.С.Галеева, Л.С.Согрина, 1960; С.А.Адинцова, 1962; Ю.Д.Жарданиа, 1965) и при недостаточности мозгового кровообращения (А.А.Бенедикт, В.С.Дашковская, 1955; А.М.Генкин и др., 1957; Б.О.Майорова, А.Н.Яковлева, 1957; Т.Н.Смолина, К.А.Согрина, 1958).

Первые исследования по влиянию глутаминовой кислоты на аэробные окислительные процессы в условиях гипоксии выполнены А.М.Генкиным и Н.А.Удинцевым в 1958 году. Было установлено, что введение глутамата натрия в дозе 1 мг на 1 г веса в условиях гипоксии, вызванной помещением животных в барокамеру, повышает потребление кислорода подопытными животными примерно на 29% по сравнению с контрольной группой. Такой эффект глутамата авторы объясняют вовлечением его в цикл Кребса и стимуляцией аэробных окислительных процессов. С целью выяснения механизма действия глутаминовой кислоты в этих условиях Н.А.Удинцев и соавт. (1960, 1960а, 1961) определяли активность некоторых дыхательных ферментов и установили, что глутамат в условиях гипоксии и физической нагрузки стимулирует активность цитохромоксидазы в гомогенатах мозга (20%), печени (69%), сердечной мышцы (33%) и почек (38%). Одновременно отмечено повышение активности дегидрогеназ молочной, глутаминовой и янтарной кислот. В нормальных условиях экспериментов глутамат не влиял ни на потребление кислорода подопытными животными, ни на активность указанных

ферментов (А.М.Генкин, Н.А.Удинцев, 1958; Удинцев и соавт., 1960, 1961). Результаты А.М.Генкина и Н.А.Удинцева подтверждены исследованиями К.А.Чазовой (1966) и В.В.Скрябина (1969), которые показали, что глутаминовая кислота повышает работоспособность и улучшает биохимические показатели при интенсивной мышечной работе и утомлении. В аналогичных опытах установлено, что при длительной физической нагрузке происходит снижение активности АТФ-азы в мышечной ткани. Глутаминовая кислота в этих условиях стимулирует аденозинтрифосфатазную активность (А.Ф.Макарова, 1958), что можно расценивать как улучшение энергообеспечения интенсивно работающих мышц.

Существенный интерес представляет изучение влияния глутаминовой кислоты на содержание углеводных резервов и макроэргических соединений в тканях подопытных животных, находившихся в состоянии гипоксии. В опытах на белых крысах, помещенных в барокамеру с атмосферным давлением 190-200 мм ртутного столба, количество гликогена в печени и мышцах снижается в 7 и 2,5 раза соответственно. Введение глутаминовой кислоты нормализует содержание гликогена в печени (Ю.М.Гефтер и соавт., 1961; М.А.Добринская, 1962) и в мышцах, увеличивая в последних количество креатинфосфата и АТФ (Ю.М.Гефтер и соавт., 1962, 1966; А.В.Захарова, 1962; А.М.Генкин и соавт., 1966), и вызывает снижение недоокисленных продуктов обмена в крови и скелетных мышцах (Н.А.Удинцев, 1966; А.Генкин и соавт., 1967).

Подобные результаты получены при использовании глутаминовой кислоты в качестве лечебного препарата для лечения детей первого года жизни, страдавших пневмонией. Установлено, что глутаминовая кислота значительно улучшает показатели кислотно-щелочного равновесия и снижает уровень недоокисленных продуктов обмена у этой группы детей (Н.П.Демченко, 1969, 1969а, 1970).

В экспериментах на белых крысах показано, что в условиях гипоксии глутамат повышает напряжение кислорода в тканях (А.П.Валов, 1968, 1969, 1970; А.В.Сапожников, 1968), улучшает гемодинамику и дыхательную функцию крови (М.С.Волков, 1963). Нашими исследованиями манометрическим методом тканевого дыхания установлено, что глутаминовая кислота стимулирует дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях, выделенных из печени животных, находившихся в течение двух часов в условиях гипоксии (А.М.Генкин, Н.А.Глотов, 1967; Н.А.Глотов, 1967). При более детальном исследовании влияния глутаминовой кислоты на функциональное состояние митохондрий найдено, что при острой гипоксии глутамат стимулирует дыхание в митохондриях печени и почек и нормализует метаболическое состояние митохондрий сердечной мышцы. Введение глутамата животным предотвращает низкоэнергетический сдвиг в дыхательной цепи митохондрий печени, сердца и почек как при острой, так и при хронической гипоксии (Е.И.Маевский, 1970).

Таким образом, глутаминовая кислота, улучшая аэробные окислительные процессы при гипоксии, способствует более экономному расходованию энергетических ресурсов, повышает резистентность организма и ускоряет его адаптацию к недостатку кислорода.

х

х

х

Анализ данных литературы позволяет сделать вывод о том, что, несмотря на значительное количество работ, посвященных изучению тканевых адаптационных механизмов к гипоксии, эта проблема далека от окончательного решения. Изучение механизма адаптации к острой и хронической гипоксии имеет большое значение для понимания патогенеза тех заболеваний, ведущим патогенетическим фактором которых является гипоксия, для научного обоснования и разработки оптималь-

ного режима тренировки спортсменов, для космической медицины, и, наконец, проникновение в сущность адаптационных механизмов к кислородному голоданию поможет разрешить многие нерешенные вопросы, касающиеся общепатологических механизмов адаптации организма к условиям внешней среды.

Имеющиеся данные литературы по влиянию острой гипоксии на дыхание и изменение функционального состояния митохондрий в процессе адаптации к дефициту кислорода в организме весьма противоречивы и не позволяют сделать однозначных выводов. Недостаточно изучены изменения в системе ферментов дыхательной цепи при воздействии острой и хронической гипоксии. При этом следует отметить, что в большинстве этих экспериментов активность ферментов определялась колориметрическими методами, которые требуют длительной инкубации и дают суммарный результат. Более точно об активности ферментов можно судить, определяя начальную скорость реакции (М.Диксон, Э.Уэбб, 1966). Указанному требованию более полно удовлетворяет спектрофотометрический метод определения ферментативной активности. Этот метод позволяет определить скорость реакции в течение первых минут и проследить динамику изменения активности фермента во времени.

В последнее время в регуляции функционального состояния митохондрий уделяется большое внимание концентрации эндогенных субстратов. Есть все основания полагать, что в условиях гипоксии, когда имеются значительные изменения в порядке и скорости реакций цикла Кребса, происходят сдвиги в концентрации метаболитов, которые носят адаптивный характер. Однако этому вопросу незаслуженно уделяется слишком мало внимания. Имеющиеся сведения в основном касаются определения накопления эндогенных субстратов митохондрий при изучении обмена различных веществ в опытах *in vitro* в условиях це-

лостного организма эти процессы исследованы явно недостаточно. Имеются лишь работы М.Н.Кондрашовой (1971) и Е.И.Маевского (1970), в которых определяли содержание янтарной кислоты при гипоксии. Что касается α -кетоглутаровой и щавелевоуксусной кислот, которые играют исключительно важную роль в регуляции окислительных процессов в митохондриях, то их количественное содержание в тканях организма, испытывающего кислородное голодание, не определялось.

Существует тесная взаимосвязь между обменом α -кетоглутаровой, щавелевоуксусной, янтарной и глутаминовой кислотами. К настоящему времени в опытах на изолированных митохондриях довольно хорошо изучены взаимные превращения этих кислот между собой. Установлено, что глутаминовая кислота, активно вмешиваясь в этот процесс, изменяет направленность и интенсивность метаболических превращений янтарной и щавелевоуксусной кислот.

Следует отметить, что обмен глутаминовой кислоты изучался главным образом в опытах *in vitro*. Такие эксперименты позволили выявить очень важные стороны метаболизма этого соединения. В частности, показано, что его обмен может происходить по следующим основным путям:

- переаминирование со многими кетокислотами, которое наиболее легко осуществляется со щавелевоуксусной кислотой;
- окислительное дезаминирование с выделением α -кетоглутарата и свободного аммиака;
- декарбоксилирование и превращение в γ -аминомасляную кислоту.

Все эти реакции являются источником образования янтарной кислоты, которая занимает одно из центральных мест среди адаптивных механизмов к внешним воздействиям различной этиологии.

Однако результаты этих исследований носят ограниченный характер, поскольку в опытах *in vitro* не может быть учтено влияние

важнейших регуляторных механизмов нервной и эндокринной систем на функциональное состояние митохондрий, а следовательно, полностью исключается одна из потенциальных возможностей глутаминовой кислоты влиять на окислительные процессы митохондрий через эти системы. Последнее положение основывается на данных литературы, свидетельствующих о том, что глутаминовая кислота влияет на деятельность нервной и эндокринной систем.

Более ценные результаты о характере обменных процессов могут быть получены в опытах *in vivo*. С этой точки зрения особый интерес представляют данные о стимуляции аэробных окислительных процессов в организме в условиях гипоксии при введении глутаминовой кислоты. О характере этих процессов судили на основании определения в тканях содержания гликогена, АТФ, креатинфосфата и недоокисленных продуктов обмена. Однако эти тесты могут быть лишь косвенными показателями изменения дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях и поэтому недостаточно полно раскрывают механизм действия глутамата на аэробные окислительные процессы.

Проведенные нами манометрическим методом исследования по влиянию глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени при острой гипоксии далеко не полностью освещают механизм действия острой гипоксии и глутаминовой кислоты на функциональное состояние митохондрий. Внедрение в практику полиграфического метода определения тканевого дыхания позволяет более полно и глубже исследовать функцию митохондрий и приблизить эксперименты на изолированных митохондриях к физиологическим условиям.

Таким образом, тканевые адаптационные механизмы к воздействию острой и хронической гипоксии, связанные с изменениями функции митохондрий и концентрации метаболитов цикла Кребса, изучены недостаточно. Далеко не полно исследованы также механизмы действия глутамино-

вой кислоты на эти процессы при дефиците кислорода в организме.

Исходя из вышеизложенного, основные задачи настоящей работы заключались в изучении тканевых приспособительных механизмов к кислородному голоданию и в исследовании механизма адаптивного действия глутаминовой кислоты на организм при гипоксии. С этой целью исследовали тканевое дыхание и активность ферментов дыхательной цепи в митохондриях, выделенных из печени, сердца и почек животных, находившихся в условиях острой и хронической гипоксии; определяли количественное содержание α -кетоглутаровой, щавелевоуксусной, янтарной и пировиноградной кислот в крови, печени, сердце и почках.

Мы полагали, что результаты этих исследований позволят расширить наши представления о тканевых приспособительных механизмах к кислородному голоданию и об адаптационных механизмах действия глутаминовой кислоты на организм при гипоксии.

Глава II

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для опытов использованы белые крысы. Выбор этих животных определился тем, что белые крысы по характеру питания ближе стоят к человеку, вес их органов сравнительно большой и позволяет получить достаточное количество митохондрий для проведения широкого круга исследований в органах одного и того же животного.

Объектом исследования были выбраны митохондрии печени, сердца и почек. Гипоксия является особым видом воздействия на организм, которое в первую очередь затрагивает функцию митохондрий. В литературе имеются сведения о том, что митохондрии указанных органов имеют различную чувствительность к недостатку кислорода (G. Furman и соавт., 1950; Н.Н.Сиротинин, 1958; G. Michael и соавт., 1959; Л.Л.Шимкевич и соавт., 1968; А.И.Назаренко, В.А.Березовский, 1969). Неодинаковая чувствительность к гипоксии печени, сердца и почек определяется различиями функциональной активности и их обеспеченности кислородом в условиях организма (A.P.Sanders и соавт., 1965; К.П.Иванов, 1968; М.Е.Маршак, 1969). Предполагалось в связи с этим, что при гипоксии митохондрии разных органов одного и того же животного могут находиться в различных функциональных состояниях. Поэтому в своих экспериментах на митохондриях органов одного животного мы проводили большой круг исследований, полагая, что такая методика проведения опытов позволит иметь более точные представления об особенностях ответных реакций митохондрий разных органов на гипоксию.

Опыты проведены на 1100 белых крысах-самцах весом от 180 до 350 г. Животных содержали на обычном рационе. За 16-20 часов до начала эксперимента их отсаживали в отдельные клетки и лишали пищи.

В соответствии с целью экспериментов все животные были разделены на четыре группы:

- 1). Норма, вводился физиологический раствор;
- 2). Норма, вводили натриевую соль глутаминовой кислоты;
- 3). Гипоксия, вводился физиологический раствор;
- 4). Гипоксия, вводился глутамат натрия.

Одновременно в опыт брали по одному животному из каждой группы.

Острую гипоксию у крыс вызывали в приточно-вытяжной барокамере, где создавали разрежение воздуха, соответствующее высоте 8000 метров. В этих условиях животные находились в течение 30, 60 или 120 минут. Адаптацию крыс к кислородному голоданию осуществляли на "высоте" 6000 метров по 6 часов в день в течение двух недель. У адаптированных к гипоксии животных все исследования проводились после пребывания их на "высоте" 8000 м в течение 60 минут. Глутамат натрия применяли в виде 10% раствора. В опытах с острой гипоксией его вводили подкожно за 30 мин. до помещения крыс в барокамеру, а при хронической гипоксии — один раз в день через зонд в желудок, из расчета 1 мг на 1 г веса, и делали это непосредственно перед помещением крыс в барокамеру. Первая и третья группы животных получали равный объем физиологического раствора.

Митохондрии из печени, сердца и коркового слоя почек выделяли общепринятым методом дифференциального центрифугирования (Д.Хогбум, В.Шнейдер, 1957; А.А.Покровский и др., 1968) в среде выделения, состоящей из 0,25 М раствора сахарозы, приготовленного на 0,02 М трис-буфере с 0,001М ЭДТА (pH=7,4).

Для определения тканевого дыхания брали концентрированную взвесь митохондрий. С этой целью к митохондриям, полученным из 1,0 г исследуемых органов добавляли 0,10 — 0,15 мл среды выделения. На одно исследование брали 0,06 мл взвеси митохондрий, содер-

жащей 3-4 мг белка. Взвесь митохондрий использовали также для определения активности ферментов тканевого дыхания, для чего разводили ее средой выделения с таким расчетом, чтобы 0,05 мл содержали 0,15-0,20 мг белка. Разбавленную взвесь митохондрий, предназначенную для определения активности ферментов, подвергали трехкратному замораживанию в смеси соли со льдом. Эта процедура необходима для увеличения проницаемости мембран митохондрий.

Белок митохондрий определяли по методу Клиленда, Слейтера (K.W.Clelland, E.C. Slater, 1953) с биуретовым реактивом (Дж. Бейли, 1965).

1. ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЫХАНИЯ В МИТОХОНДРИЯХ

Теоретические предпосылки и обоснование использования полярографии для количественного анализа описаны в ряде руководств (Я.Гейровский, 1937, 1951, 1967; Т.А.Крюкова и соавт., 1959; И.Б.Коган и соавт., 1961; Е.Н.Виноградова и соавт., 1963).

Полярографический метод регистрации тканевого дыхания получил широкое распространение благодаря работам B.Chance, G.D.Williams (1955); D.Bellamy и соавт.(1960); Д.Н.Островского (1962); М.Н. Кондрашовой (1964).

В наших исследованиях в качестве индикаторного электрода использован вращающийся платиновый электрод, а электродом сравнения служил каломельный электрод. Эта пара электродов позволяет создать более устойчивый режим работы полярографа (И.М.Кольтоф, Д.Д.Лингейн, 1948; И.Б.Коган, 1961).

Платиновый электрод изготавливали из проволоки длиной 10 мм и диаметром 0,8 мм. Платину спаивали в стеклянную трубку так, чтобы снаружи оставался отрезок длиной 4 мм, а внутри обеспечивался хороший контакт с очищенной ртутью. Каломельный электрод изготавливали

в соответствии с описанием Е.Н.Виноградовой и соавт. (1963), площадь его составляла около 10 см^2 .

Схема установки для полярографического определения кислорода представлена на рисунке 5.

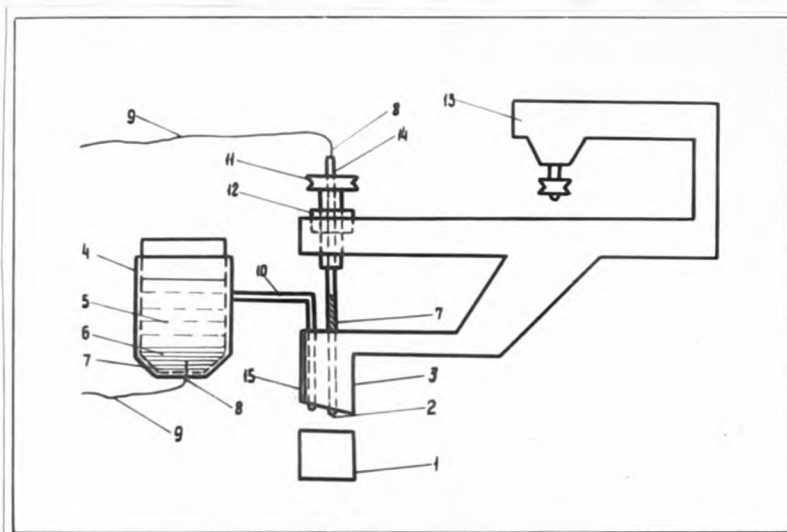


Рис. 5. Схема установки для полярографического определения кислорода: 1 - ячейка, 2 - платиновый электрод, 3 - крышка ячейки, 4 - каломельный электрод, 5 - насыщенный раствор хлористого калия, 6 - каломель, 7 - ртуть, 8 - платиновый проводник для контакта с ртутью, 9 - медный провод для подключения к клеммам полярографа, 10 - соединительный мостик каломельного электрода, 11 - втулка, 12 - шарикоподшипник, 13 - электромотор, 14 - стеклянная трубка, 15 - паз для добавок.

Платиновый электрод вставлен во втулку и закреплен в подшипнике. Электродвигатель (ДАП-1), подшипник с платиновым электродом и крышка ячейки совмещены в одном блоке из органического стекла. В крышке ячейки имеются два отверстия. Через одно отверстие с минимальным зазором вставлен платиновый электрод, а через другое -

соединительный мостик иаломельного электрода, заполненный насыщенным раствором хлористого калия. На боковой поверхности крышки имеется паз диаметром 1,5 мм, через который во время опытов добавляли реактивы.

Регистрацию дыхания осуществляли на полярографе типа Р-60. Рабочее напряжение выбирали на основании записи полярограммы и наблюдаемого плато на инкубационной среде. Оно обычно равнялось 0,65 - 0,70 в.

Состав инкубационной среды (в молях на литр): 0,15 М сахаразы, 0,02 М калий фосфатного буфера (рН=7,4), 0,01 М хлористого магния, 0,015 М хлористого калия, 0,1 мМ ЭДТА (рН=7,4). В качестве субстратов дыхания использовали 5 мМ раствор сукцината и 8 мМ - глутамата. Акцептором фосфата служила АДФ в концентрации 200 мМ.

Перед опытом ячейку и электроды промывали дистиллированной водой и средой инкубации. Затем в нее наливали 0,95 мл инкубационной среды и 0,02 мл субстрата. В эту смесь погружали электроды и спустя 1,0 - 1,5 мин добавляли 0,06 мл взвеси митохондрий. Через 1 мин липидного дыхания в ячейку добавляли 0,02 мл раствора АДФ. По окончании фосфорилирования АДФ, которое сопровождается замедлением скорости потребления кислорода, полярограмму записывали в течение 1,0 - 1,5 мин.

Определение сохранности функционального состояния митохондрий показало, что изолированные митохондрии печени при хранении на льду дают воспроизводимые результаты в течение 2 часов, а гранулы сердца и коркового слоя почек - в течение 40-60 мин. Поэтому продолжительность экспериментов с митохондриями сердца не превышала 15, почек - 30 и печени - 60 мин с момента выделения митохондрий из органов.

На основании полученных полярограмм дыхания (рис. 6) расче-

тивали следующие показатели: $V_{4 \text{ до}}$ — скорость дыхания в присутствии субстрата, но без АДФ; V_3 — скорость дыхания в присутствии субстрата и АДФ; V_4 — скорость дыхания после фосфорилирования добавленного АДФ в АТФ.

Скорость дыхания V_E определяли по формуле:

$$\frac{A \cdot B}{T \cdot C} = V_E \text{ мк А О/мин мг белка,}$$

где А — количество мм, соответствующее уменьшению диффузионного тока при дыхании за время Т; В — цена одного деления в мкА кислорода, которая определяется отношением концентрации кислорода в ячейке к первоначальному диффузионному току, выраженному в мм; С — концентрация белка митохондрий в мг. Начальную концентрацию кислорода определяли по таблице (R.W.Estabrook, 1967).

Дыхательный контроль рассчитывали по H.A.Lardy, H.Wellman, (1952):

$$\text{ДКЛ} = \frac{V_3}{V_{4 \text{ до}}} ;$$

и по B.Chance, G.R.Williams (1956):

$$\text{ДКЧ} = \frac{V_3}{V_4} .$$

Коэффициент фосфорилирования (АДФ:О) определяли как отношение добавленного АДФ (в мм) к количеству поглощенного кислорода (в мкА) с момента добавления АДФ до его полного фосфорилирования.

Скорость фосфорилирования АДФ в АТФ определяли по формуле:

$$V_{\Phi} = \frac{\text{АДФ}}{T \text{ мг белка}},$$

где V_{Φ} — скорость фосфорилирования; Т — время фосфорилирования добавленного АДФ.

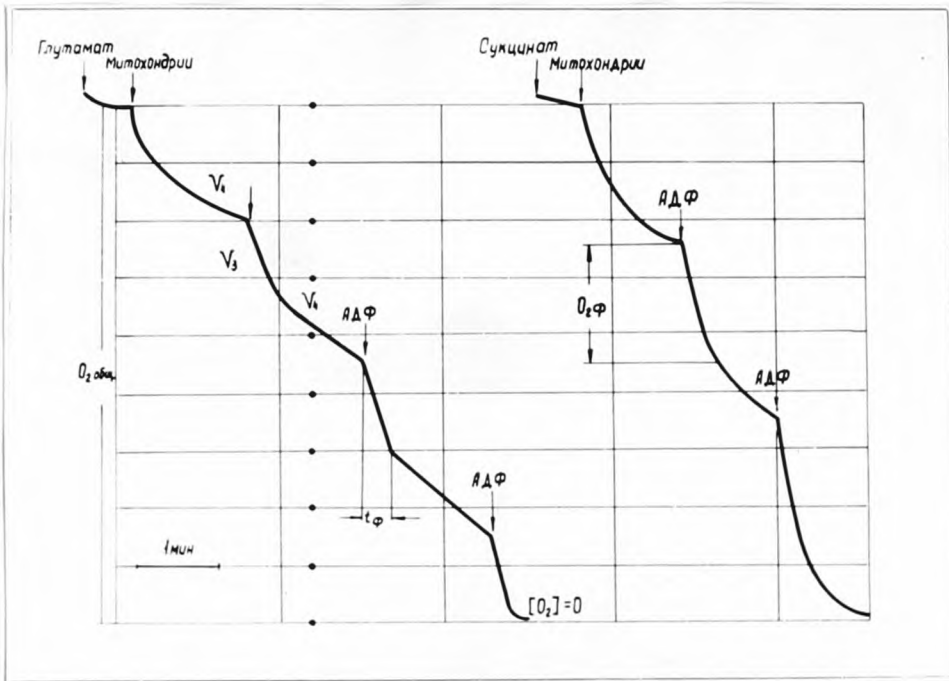


Рис. 6. Полярограммы дыхания митохондрий печени крыс.

2. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ В МИТОХОНДРИЯХ

Сукцинатдегидрогеназа (КФ I.3.99.1)

Для определения активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в качестве акцепторов электронов и протонов с янтарной кислоты используются 2,6-дихлорфенолиндифенол (А.А.Покровский и др., 1968), феррицианид калия (W.D.Bonner , 1955), соли тетразолия, феназин-мета-сульфат (В.Jambor , 1954; Д.М.Михлин, 1960; Т.В.Кинг , 1963), цитохром С и другие соединения. Мы предпочли методику с использованием естественного акцептора электронов и протонов — цитохрома С.

Транспорт электронов и протонов по дыхательной цепи при окислении сукцината отличается от такового НАД-зависимых дегидрогеназ. Водород от сукцината поступает на специальный флавопротеид (ФЛП), затем на негеминное железо, убихинон (Q), цитохром С, (В) и С (Д.Грин, 1964).

Определяя активность сукцинат: цитохром С — оксидоредуктазы, надо иметь в виду, что при этом участвует целая ферментная система, расположенная между сукцинатдегидрогеназой и цитохромом С.

Активность СДГ определяли спектрофотометрическим методом по скорости восстановления цитохрома С янтарной кислотой при 550 нм. (Y.Hatefi и др., 1961).

Состав инкубационной смеси:

1. 2,0 мл 0,5 М калий-фосфатного буфера (pH=7,4);
2. 0,2 мл 0,02 М цианистого калия, нейтрализованного соляной кислотой;
3. 0,1 мл 0,3 М янтарной кислоты (pH=7,4);
4. 0,2 мл 1% раствора цитохрома С;

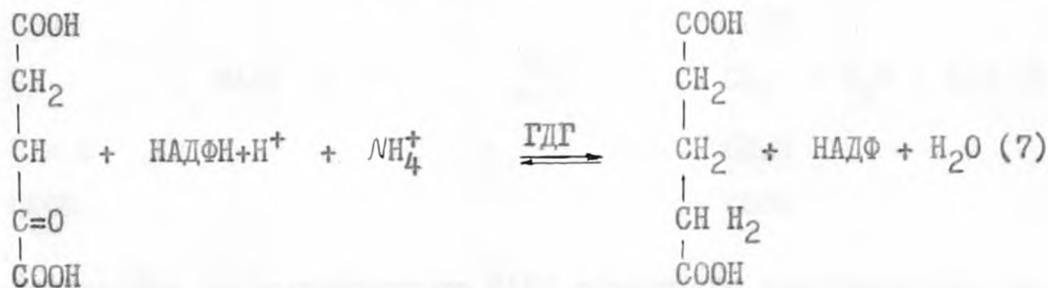
5. 0,5 мл взвеси митохондрий, содержащей 0,15-0,20 мг белка;
6. 0,45 мл воды.

Инкубационную смесь, за исключением янтарной кислоты, наливали в кювету с толщиной слоя 10 мм. После того, как показания спектрофотометра стабилизировались, добавляли янтарную кислоту, быстро перемешивали содержимое кюветы и не позднее, чем через 15 сек после добавления сукцината определяли экстинцию (E_1). Отсчет увеличения экстинции производили через каждые 30 и 60 сек (E_2). Активность фермента выражали в увеличении экстинции ($\Delta E = E_2 - E_1$) на 1 мг белка митохондрий за 1 мин.

Глутаматдегидрогеназа (КФ 1.4.1.2)

Активность глутаматдегидрогеназы (ГДГ) определяли по скорости восстановительного аминирования α -кетоглутаровой кислоты ферментом митохондрий (I.A.Olson, C.B.Anfinsen, 1952; K.S.King, C. Frieden, 1970; А.А.Покровский и соавт., 1968). Скорость реакции определяли по количеству израсходованного НАДФН спектрофотометрическим методом на СФ-4а при 340 нм.

Реакция:



Инкубационная смесь:

1. 0,1 мл раствора НАДФН (6 мг в 1 мл калий фосфатного буфера, pH = 7,6;
2. 0,1 мл $2 \cdot 10^{-2}$ М NH_4Cl ;

3. 0,1 мл $5 \cdot 10^{-3}$ М α -кетоглутарата;
4. 2,45 мл 1/15 М фосфатного буфера (рН=7,6);
5. 0,05 мл взвеси митохондрий (0,15 – 0,20 мг белка);
6. 0,2 мл 0,02 М цианистого калия, нейтрализованного соляной кислотой.

Инкубационную смесь за исключением α -КГЛ наливали в кювету с толщиной слоя 10 мм. Выжидали несколько минут до окончания спонтанного окисления НАДН и вносили в кювету 0,1 мл α -КГЛ, быстро перемешивали смесь и определяли начальную экстинцию (E_1). Оптическую плотность отсчитывали через 30 и 60 сек (E_2). Падение оптической плотности определяли как $\Delta E = E_1 - E_2$.

Количество израсходованного НАДФН определяли по калибровочной кривой, которую строили по свежему препарату восстановленного НАДФ. Стандартные растворы готовили с содержанием НАДФН от 1 до 25 мкМ. Результаты опытов выражали в мкМ НАДФН на 1 мг белка митохондрий в 1 минуту.

Малатдегидрогеназа (КФ 1.1.1.37)

Принцип метода основан на реакции восстановления щавелевоуксусной кислоты в яблочную (S.Ochoa, 1955):



Количество израсходованного НАДН определяли спектрофотометрическим методом при 340 нм.

Инкубационная смесь:

1. 2,4 мл 0,02 М трис-буфера (рН=7,4);
2. 0,2 мл 0,02 М цианистого калия, нейтрализованного соляной

кислотой до $\text{pH}=7,4$;

3. 0,05 мл динатриевой соли НАДН (6 мг в 1 мл);

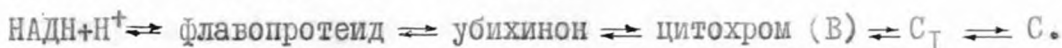
4. 0,1 мл 0,01 М щавелевоуксусной кислоты ($\text{pH}=7,4$);

5. 0,05 мл взвеси митохондрий (0,15 – 0,20 мг белка).

Реакцию начинали внесением 0,1 мл щавелевоуксусной кислоты после окисления эндогенного субстрата. Убыль оптической плотности (ΔE) регистрировали против воды через 30 и 60 сек. Количество мкМ израсходованного НАДН определяли по калибровочной кривой (см. глутаматдегидрогеназу). Результаты выражали в мкМ НАДН на 1 мг белка митохондрий в 1 мин.

НАДН:цитохром С – оксидоредуктаза (КФ.1.6.99.3)

Принцип метода основан на восстановлении цитохрома при окислении НАДН (A.Brodie, 1955):



Активность этого комплекса ферментов определяли спектрофотометрически по скорости восстановления цитохрома С при 550 нм.

Реактивы (Z.M.Corvin, B.Schwarz, 1959):

1. 2 мл 0,15 М фосфатного буфера ($\text{pH}=7,4$);

2. 0,2 мл 0,02 М раствора цианистого калия, нейтрализованного соляной кислотой;

3. 0,2 мл 1% раствора цитохрома С;

4. 0,1 мл 0,012 М раствора динатриевой соли НАДН;

5. 0,45 мл воды;

6. 0,05 мл взвеси митохондрий (0,15 – 0,20 мг белка).

Объем инкубационной смеси – 3 мл, в контроле вместо НАДН – 0,1 мл воды. Реакцию начинали внесением цитохрома С. Измерения проводили против контрольной пробы через 30–60 сек. Активность фермента выражали в увеличении оптической плотности (ΔE) на

I мг белка митохондрий в I мин.

Цитохром С - оксидаза (КФ I.9.3.I.)

Метод основан на спектрофотометрической регистрации скорости окисления восстановленного цитохрома С (L.Smith , 1955);



Реактивы:

1. 1% восстановленный цитохром С;

2. 1/15 М фосфатный буфер (рН=7,4);

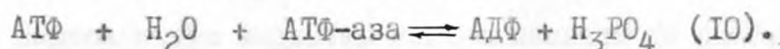
3. 3,2% свежеприготовленный раствор гидросульфита натрия.

Для восстановления цитохрома С к I мл 1% его раствора добавляли 0,02 мл 3,2% раствора гидросульфита натрия. При восстановлении цитохрома С оптическая плотность (E_{550}) увеличивается более, чем в два раза (А.А.Покровский и соавт., 1968).

Ход определения: в кювету спектрофотометра наливали 2,75 мл 1/15 М фосфатного буфера и 0,2 мл восстановленного цитохрома С. По окончании самопроизвольного окисления цитохрома С, добавляли 0,05 мл взвеси митохондрий, быстро перемешивали содержимое кюветы и определяли падение оптической плотности раствора при 550 нм через 30 и 60 сек. Результаты рассчитывали в уменьшении экстинции (ΔE) на I мг белка митохондрий в I мин.

Аденозинтрифосфатаза (КФ 3.6.1.4)

Принцип метода основан на реакции гидролитического расщепления АТФ под действием АТФ-азы митохондрий с последующим определением количества освободившегося неорганического фосфата. По увеличению концентрации неорганического фосфата в инкубационной среде судили об активности фермента:



Определяли АТФ-азную активность, стимулируемую динитрофенолом (ДНФ) и ионами магния.

Инкубационная смесь (объем 2 мл) (В.П.Скулачев, 1969):

1. 0,25 мМ раствор сахарозы;
2. 0,05 мМ трис-буфера (pH=7,4);
3. 0,1 мМ 2,4-динитрофенола;
4. 3 мМ сернокислого магния;
5. 3 мМ АТФ;
6. 0,5 мл взвеси митохондрий (1,5 - 2 мг белка).

Инкубационную смесь готовили двух видов: без ДНФ и с ДНФ. Через 15 минут инкубации при 26° митохондрии осаждали 2 мл 5% трихлоруксусной кислоты и в надосадочной жидкости определяли неорганический фосфат по методу Фiske-Суббароу. Результаты рассчитывали в мМ неорганического фосфата на 1 мг белка митохондрий в 1 час.

Активность глутамат:щавелевоуксусной-аминотрансферазы определяли колориметрическим методом (Н.Н.Пушкина, 1963).

3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТ ЦИКЛА КРЕБСА

Получение экстракта из тканей и крови

Крыс декапитировали, быстро извлекали нужный орган, ополаскивали от крови в ледяном 0,9% растворе поваренной соли, высушивали фильтровальной бумагой и замораживали в жидком азоте. Навеску замороженной ткани тщательно растирали в охлажденной ступке в 4 объемах 10% раствора хлорной кислоты. Кровь собирали, добавляли в нее 2 капли гепарина, отбирали 4-5 мл и смешивали с 4 объемами 10% раствора хлорной кислоты. Затем хлорный экстракт центрифугировали в рефрижераторной центрифуге при 9000 г и температуре 0°С. Надосадочную жидкость нейтрализовали до pH=7,4 - 7,6 на льду,

сначала 8 N , а затем $0,2\text{ N}$ раствором едкого калия. Выпавший осадок хлорной кислоты удаляли центрифугированием при $3000\text{ в } 10\text{ мин.}$ Полученный экстракт после контроля pH использовали для определения кетокислот.

Определение α -кетоглутаровой кислоты (α -КГЛ)

Использован ферментный метод определения α -кетоглутаровой кислоты, который основан на реакции восстановительного аминирования α -КГЛ (см. реакцию 7).

Количество α -КГЛ определяли спектрофотометрически по уменьшению оптической плотности реакционной среды при 340 нм.

Глутаматдегидрогеназу (ГДГ) получали из митохондрий печени белых крыс по методу K.S.King, C.Frieden (1970). Митохондрии из печени выделяли методом дифференциального центрифугирования и обрабатывали охлажденным до минус $15-20^{\circ}$ ацетоном. Из полученного сухого ацетонового порошка митохондрий экстрагировали ГДГ 10 объемами $0,05\text{ M}$ калий-фосфатного буфера ($\text{pH}=7,4$) в течение одного часа. После удаления нерастворимого осадка центрифугированием при 12000 в и температуре около 0° в течение 10 мин. к препарату митохондрий при постоянном помешивании небольшими порциями добавляли 96% охлажденный до минус $10-15^{\circ}$ этанол до 20% концентрации и охлаждали препарат до минус $8-10^{\circ}$. Выпавший осадок удаляли центрифугированием в течение 10 мин в рефрижераторной центрифуге при 12000 в и температуре 0° . Полученный осадок растворяли в минимальном объеме $0,05\text{ M}$ калий-фосфатного буфера ($\text{pH}=7,4$). К полученному раствору добавляли сульфат аммония до 60% концентрации. Выпавший в осадок фермент отделяли центрифугированием при 12000 в 20 мин при температуре 0° и растворяли в минимальном объеме $0,02\text{ M}$ калий-фосфатного буфера с $\text{pH}=7,0$.

Специфичность полученной ГДГ проверяли спектрофотометрически по окислению НАДН в реакции восстановительного аминирования α -КГЛ в инкубационной среде, состоявшей из 0,2 мл 0,05 М α -кетоглутарата (рН=7,6), нейтрализованного 1 М раствором КОН; 0,03 мл раствора НАДН+Н⁺ (7мг в 1 мл); 0,15 мл 3М раствора хлористого аммония; 2,5 мл 1/15 М калий-фосфатного буфера (рН=7,6) и 0,05 мл фермента (K.S.King и соавт., 1970). С пируватом и со щавелевоуксусной кислотой фермент не реагировал. Раствор фермента разливали в ампулы по 1 мл, запаивали и хранили в замороженном состоянии. При таком режиме хранения активность ГДГ сохраняется более 3 месяцев.

Х о д а н а л и з а

2 мл нейтрализованного до рН=7,6 экстракта из ткани (получение экстракта см. выше) выливали в кювету спектрофотометра (толщина слоя 10 мм), добавляли 0,05 мл раствора НАДН (7 мг в 1 мл), 0,2 мл 3 М раствора хлористого аммония и 0,7 мл 1/15 М калий-фосфатного буфера (рН=7,6). Затем определяли оптическую плотность этой смеси (E_1) против воды при 340 нм, добавляли 0,05 мл ГДГ и оставляли на 10-15 мин. Затем вновь определяли оптическую плотность. Через 1-2 мин измерения повторяли, контролируя окончание реакции, и проводили их до стабильных показаний спектрофотометра, определяя E_2 . Для определения увеличения оптической плотности за счет фермента в эту же кювету добавляли 0,05 мл фермента и определяли оптическую плотность раствора (E_{ϕ}). Убыль экстинции (ΔE) рассчитывали по формуле:

$$\Delta E = E_1 - E_2 + (E_{\phi} - E_2)$$

Количество α -КГЛ рассчитывали по формуле:

$$\frac{\Delta E \cdot 3,05}{6,22 \cdot l} = \Delta E \cdot 0,490 \text{ mM } \alpha\text{-КГЛ в содержимом кюветы,}$$

где 3,05 – объем реакционной среды в кювете, 6,22 – коэффициент микромолярной экстинкции восстановленного НАД. Умножив $\Delta E \cdot 0,49$ на общее разведение (учитывается разведение при получении хлорного экстракта и нейтрализации этого экстракта щелочью), получали результат в мкм ΔKGL на 1 г ткани. Окончательный расчет производили на 100 г ткани.

Определение щавелевоуксусной (ШУК) и пировиноградной (ПВК)

КИСЛОТ

Принцип метода основан на ферментном восстановлении щавелевоуксусной кислоты (ШУК) в реакции с НАДН и определении убыли оптической плотности, которая происходит в результате окисления восстановленного НАД (см. реакцию 8). Реакция идет в эквивалентных соотношениях, поэтому по количеству окисленных мк молей НАДН определяли щавелевоуксусную кислоту.

Получение малатдегидрогеназы (C.I.R.Thorne, P.M.Cooper, 1964)

Фермент получали из печени белых крыс. Измельченную ткань смешивали с 3 объемами 0,02 М калий-фосфатного буфера (pH=7,4) и центрифугировали при 2000g на рефрижераторной центрифуге при температуре около 0°. Собирали надосадочную жидкость, доводили pH до 5,4 0,1 М раствором уксусной кислоты и оставляли на холоду на 12–18 часов. После центрифугирования при 10000g в течение 20 мин собирали надосадочную жидкость и добавляли к ней сульфат аммония до 60% концентрации. Выпавший осадок отделяли центрифугированием при 10000g в течение 10 мин при 0° и растворяли его в холодной дистиллированной воде. К полученному раствору добавляли охлажденный до минус 15–20 ацетон до 40% концентрации и центрифугировали при 5000 в течение 10 мин при 0°. Осадок растворяли в 0,01 М калий-фосфатном буфере (pH=6,9) и раствор диализовали

против 0,01 М раствора калий-фосфатного буфера (рН=6,9). Осадок удаляли центрифугированием и к надосадочной жидкости добавляли сульфат аммония до 60% концентрации. Центрифугировали при 10000 g в течение 20 мин и осадок растворяли в минимальном объеме дистиллированной воды. Полученный раствор, содержащий смесь малатдегидрогеназы (МДГ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ), разливали по 0,5 мл в ампулы, запаивали и хранили в замороженном состоянии; в этих условиях ферменты сохраняют активность не менее 3 месяцев.

Для определения пирувата использовали кристаллическую лактатдегидрогеназу.

Х о д а н а л и з а

В кювету спектрофотометра с толщиной слоя 10 мм наливали 2 мл экстракта из ткани, 0,05 мл раствора динатриевой соли НАДН (7 мг в 1 мл), 0,9 мл калий-фосфатного буфера (рН=7,4) и определяли оптическую плотность на СФ-4А (E_I) при 340 нм. Затем добавляли 0,05 мл разведенной 1:10 ЛДГ и смесь оставляли на 10 мин. С 1-2 минутными интервалами определяли оптическую плотность при той же длине волны до стабильных показаний прибора (E_2). По окончании реакции в кювету добавляли 0,05 мл раствора фермента и определяли увеличение оптической плотности ($E_{ЛДГ}$). В эту же кювету добавляли 0,05 мл смеси МДГ и ЛДГ и оставляли стоять на 10 мин, после чего так же, как и в случае с пируватом, определяли E_2 и $E_{МДГ}$. $E_{ЛДГ}$ здесь является начальной оптической плотностью при определении ШУК.

Убыль экстинции для пирувата определяли по формуле:

$$\Delta E = E_I - E_2 + (E_{ЛДГ} - E_2),$$

а для ШУК: $\Delta E_{Ш} = E_{ЛДГ} - E_{2Ш} + (E_{МДГ} - E_{2Ш})$.

Количество обеих кислот рассчитывали по формуле:

$$\frac{\Delta E \cdot V}{6,22 \cdot d} \cdot R = \text{мк молей кислоты на 1 г ткани,}$$

где V — объем смеси в кювете спектрофотометра;

d — толщина слоя в см;

R — общее разведение экстракта (учитывается разведение при получении хлорного экстракта и нейтрализации его щелочью);

6,22 — коэффициент микромолярной экстинкции НАДН.

Определение янтарной кислоты

Известен высокочувствительный ферментный метод определения янтарной кислоты, предложенный М.Н.Кондрашовой (1970), сущность которого заключается в определении изменения оптической плотности реакционной среды на дифференциальном спектрофотометре Чанса при восстановлении феррицианида калия в сукцинатдегидрогеназной реакции.

Недостатки метода состоят в том, что для производства анализов требуются дорогостоящий дефицитный прибор — дифференциальный спектрофотометр Чанса и оборудование для лиофильной сушки, что в значительной мере ограничивает возможности использования метода для широкого круга исследователей.

Предлагаемый нами модифицированный ферментный метод определения янтарной кислоты позволяет без снижения точности метода проводить анализы на широко распространенных отечественных приборах — спектрофотометре СФ-4А и спектроколориметре типа Specol и устранить трудоемкую операцию — лиофильную сушку.

Инкубационная среда на одну пробу содержала:

1. 0,25 мл 0,02 М трис-буфера (pH=7,5);

2. 0,1 мл $5 \cdot 10^{-2}$ М цианистого калия;

3. 0,1 мл $2 \cdot 10^{-2}$ М глутамата натрия;
4. 0,20 мл $1,2 \cdot 10^{-2}$ М свежеприготовленного феррицианида калия;
5. 0,1 мл $1,5 \cdot 10^{-2}$ М амиталя;
6. 2,15 мл воды;
7. 0,5 мл исследуемой жидкости;
8. 0,1 мл взвеси митохондрий.

Глутамат натрия добавляли для активации сукцинатдегидрогеназы, амитал — для ингибирования окисления НАД — зависимых субстратов (М.Н.Кондрашова, 1971).

Источником сукцинатдегидрогеназы служили митохондрии, выделенные из 5,0 г печени белых крыс, трижды промытые средой выделения, состоящей из 0,25 М раствора сахарозы, приготовленной на 0,01 М трис-буфере с 0,001 М ЭДТА (рН=7,4). Полученные митохондрии взвешивали в 3 мл среды выделения, хранили в замороженном состоянии около суток и использовали для анализа по 0,1 мл на пробу. При суточном хранении митохондрий увеличивается проницаемость мембран для экзогенного сукцината и снижается содержание эндогенной янтарной кислоты, которая мешает проведению анализа.

Указанную инкубационную среду готовили в день опыта, разливали в центрифужные пробирки по 3,0 мл и добавляли по 0,5 мл экстракта из тканей (получение экстракта см. выше). Пробирки 30 мин выдерживали в темноте в водяной бане с температурой 37° . В контрольную пробу вместо экстракта из ткани добавляли 0,5 мл воды. Затем добавляли в каждую пробирку по 0,02 мл 40% раствора трихлоруксусной кислоты и осаждали митохондрии. Их осадок удаляли центрифугированием при 3000g в течение 10 мин. В надосадочной жидкости определяли оптическую плотность на СФ-4А или "Specol" при 420 нм против воды в кювете с толщиной слоя 10 мм. По разнице оптической плотности контрольной (E_k) и опытной (E_o) проб опреде-

ляли падение экстинкции (ΔE), вызванное восстановлением феррицианида калия окисляющейся янтарной кислотой образца ($\Delta E = E_k - E_0$).

Количество янтарной кислоты в пробе определяли по калибровочной кривой, которую строили по стандартным растворам сукцината. Эти растворы готовили таким образом, чтобы 0,5 мл содержали 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 мкМ янтарной кислоты. Для определения ΔE по 0,5 мл этих растворов добавляли к 3 мл инкубационной смеси. Последующие процедуры описаны выше. Расчет производили в микромолях янтарной кислоты на 1 г ткани. При этом учитывали разведение при всех процедурах получения экстракта.

В таблице 2 приведены результаты для построения калибровочной кривой.

Таблица 2

Результаты для построения калибровочной кривой (ΔE)

Содержание сукцината в пробе (мкМ)	ΔE					$M \pm m$
0,1	0,050	0,060	0,60	0,055	0,050	$0,055 \pm 0,002$
0,2	0,100	0,120	0,120	0,100	0,115	$0,111 \pm 0,004$
0,3	0,150	0,170	0,180	0,140	0,155	$0,159 \pm 0,006$
0,4	0,200	0,220	0,240	0,185	0,220	$0,213 \pm 0,009$
0,5	0,250	0,300	0,300	—	0,270	$0,280 \pm 0,012$

Более надежным критерием точности метода является открытие количества добавленного вещества к анализируемому субстрату.

Из таблицы 3 видно, что колебания определений добавок составляют от 84% до 104% и что в среднем открывается 92% янтарной кисло-

ты, добавленной к гомогенату печени.

Таблица 3

Открытие добавленной янтарной кислоты
гомогенатам печени (в мкм на 1 г печени)

№ № п/п	Без до- бавки сукци- ната	С добав- кой сук- цината	Добавлено сукцината в мкм	Открыто сукцината в мкм	% открытого сукцината
1	6,35	6,77	0,5	0,42	84
2	8,16	10,06	2,5	2,44	97
3	8,16	10,35	2,5	2,19	88
4 ^{х)}	8,01	10,60	2,5	2,59	104
5 ^{х)}	8,01	10,40	2,5	2,39	95
6 ^{х)}	8,01	10,28	2,5	2,27	90
7 ^{х)}	8,01	10,19	2,5	2,18	87
$M \pm m$					$92 \pm 2,5$

х) Параллельные определения в одном и том же экстракте.

Наши данные по определению содержания янтарной кислоты в тканях совпадают с результатами, полученными методом М.Н.Кондратовой (1970).

С целью проверки возможности применения спектроколориметра типа "Spresol" для количественного определения янтарной кислоты данным методом нами проведены для сравнения измерения оптической плотности одних и тех же исследуемых растворов на этом приборе и на СФ-4а. Определения показывают (табл. 4), что данные, полученные на СФ-4а, хорошо совпадают с результатами измерений на

спектроколориметре.

Таблица 4

Оптическая плотность растворов (ΔE), определенная
на **SPECOL** и СФ-4А

№№ опытов	СФ-4А	SPECOL	№№ опытов	СФ-4А	SPECOL
1	45	45	5	130	125
2	45	45	6	115	115
3	65	65	7	105	115
4	70	65	8	105	105

Таким образом, предложенный нами метод определения янтарной кислоты в тканях выгодно отличается от метода М.Н.Кондрашовой тем, что он не требует дорогостоящего импортного спектрофотометра Чанса. Без ущерба для точности метода эти анализы можно проводить на широко распространенных приборах СФ-4А и спектроколориметрах. Кроме того, в нашей модификации устраняется трудоемкая операция по лиофильной сушке экстрактов из тканей.

Полученные результаты обрабатывали статистически по методу, описанному Беленьким (1963).

Глава III

ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ И ГЛУТАМАТА НАТРИЯ
НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ

I. ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ И АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ
 В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ, СЕРДЦА И ПОЧЕК
 ПРИ ГИПОКСИИ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

Изучение изменений в тканевом дыхании и активности дыхательных ферментов в митохондриях в ранние сроки действия гипоксии представляет интерес в связи с тем, что в течение этого времени еще не успевают включиться такие мощные компенсаторные механизмы, как усиление эритропоэза, повышение кислородной емкости крови, увеличение количества дыхательных ферментов митохондрий, миоглобина и других факторов, играющих важную роль в адаптации организма к хронической гипоксии. Необходимость исследования влияния глутаминовой кислоты на эти процессы при острой гипоксии вызвана тем, что через 1,5 часа после введения концентрация ее в тканях нормализуется. По всей вероятности, она очень быстро вовлекается в обмен и превращается в промежуточные продукты.

В таблице 5 представлены результаты опытов по влиянию острой гипоксии (30, 60, 120 мин, "высота" - 8000 метров) и глутамата натрия (в дозе 1 мг на 1 г веса) на активность сукцинатдегидрогеназы в митохондриях печени. Активность СДГ во все сроки острой гипоксии увеличивается (сравниваются I и 3 группы). Через 30 минут гипоксии она повышается на 16%, через 60 минут - на 21% и через 120 минут - на 28%.

Инъекции глутамата натрия в нормальных условиях опытов (группы I и 2, табл. 5) не влияют на активность сукцинатдегидрогеназы. Однако в условиях гипоксии (сравниваются группы 3 и 4) эта аминокислота оказывает стимулирующее влияние на активность дегидро-

Активность сукцинатдегидрогеназы в митохондриях печени
в разные сроки после введения физиологического раствора
и глутаминовой кислоты в норме и при гипоксии (ΔЕ
на 1 мг белка митохондрий в 1 мин)

№ №	Через 30 минут				Через 60 минут				Через 120 минут			
	Н о р м а		Гипоксия		Н о р м а		Гипоксия		Н о р м а		Гипоксия	
	I	2	3	4	I	2	3	4	I	2	3	4
I	0,204	0,247	0,280	0,380	0,276	0,270	0,270	0,325	0,240	0,200	0,321	0,575
2	0,300	0,208	0,334	0,400	0,261	0,260	0,288	0,409	0,200	0,260	0,271	0,471
3	0,213	0,235	0,300	0,354	0,250	0,210	0,350	0,226	0,220	0,220	0,425	0,326
4	0,228	0,208	0,280	0,312	0,140	0,390	0,247	0,300	0,326	0,263	0,230	0,385
5	0,288	0,278	0,228	0,240	0,166	0,213	0,375	0,458	0,319	0,285	0,240	0,390
6	0,232	0,230	0,250	0,327	0,307	0,176	0,269	0,275	0,264	0,280	0,350	0,400
7	0,230	0,248	0,294	0,321	0,309	0,323	0,307	0,335	0,300	0,313	0,313	0,500
8	0,210	0,219	0,285	0,321	0,285	0,375	0,333	0,278	-	-	0,344	-
9	-	-	0,276	0,361	-	0,343	0,285	0,461	-	-	0,418	-
10	-	-	0,335	0,380	-	0,225	-	0,461	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	0,250	-	0,367	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	0,367	-	-	-	-
M	0,243	0,237	0,282	0,336	0,245	0,242	0,297	0,355	0,254	0,254	0,324	0,420
±M	0,014	0,010	0,010	0,013	0,020	0,021	0,012	0,019	0,015	0,013	0,020	0,010
%	100	98 ^X	116 ^X	119 ^{XX}	100	99 ^X	121 ^X	120 ^{XX}	100	100 ^X	128	129 ^{XX}
P		>0,5	<0,05	<0,01		>0,5	<0,05	<0,05			<0,01	<0,01

П р и м е ч а н и я : 1, 3 - вводился физиологический
раствор;
2, 4 - вводился глутамат натрия;
%^X - сравниваются с группами 1;
%^{XX} - сравниваются группы 3 и 4.

геназы янтарной кислоты. После введения глутаминовой кислоты сукцинатдегидрогеназная активность увеличивается на 19, 20 и 29% соответственно по срокам гипоксии и по сравнению с контролем (группа 3).

В параллельных экспериментах на одних и тех же митохондриях печени животных, находившихся в условиях гипоксии, определялось тканевое дыхание^х). Результаты опытов представлены в таблице 6. Под действием всех сроков гипоксии в митохондриях печени происходит некоторое увеличение скорости дыхания без АДФ (v_4 до) и после полного фосфорилирования АДФ, добавленного в среду инкубации (v_4). Это свидетельствует о том, что в митохондриях имеется легкое разобщение фосфорилирующего дыхания, которое сопровождается увеличением скорости дыхания в третьем метаболическом состоянии (v_3) и сохранением интенсивности фосфорилирования АДФ в аденозинтрифосфат (v_{ϕ}) на уровне интактных животных. Следует также отметить, что имеется полная согласованность между результатами по определению тканевого дыхания и активности СДГ (табл. 5,6). Указанные метаболические сдвиги в функциональном состоянии митохондрий при острой гипоксии, связанные со стимуляцией сукцинатдегидрогеназы и усилением окисления янтарной кислоты в митохондриях печени, имеют компенсаторный характер и направлены на сохранение энергетического обмена в организме. Подобные результаты получены М.Н.Кондрашовой (1968-1971) при исследовании роли окисления янтарной кислоты в нормализации энергетического обмена в тканях в восстановительный период после окончания экстремального воздействия на организм.

В следующей серии опытов определялось влияние глутаминовой кислоты на дыхание митохондрий печени при острой гипоксии.

^х Эти опыты проделаны совместно с А.П.Ястребовым и Е.И.Маевским.

Влияние острой гипоксии на дыхание митохондрий печени
(субстрат - сукцинат)

Показатели	Контроль	Гипоксия 30 мин	Контроль	Гипоксия 60 мин	Контроль	Гипоксия 120 минут
V 4 до	18,76 $\pm$ 1,84	21,48 $\pm$ 1,41 114% P<0,05	14,26 $\pm$ 1,74	18,11 $\pm$ 1,66 127% P<0,05	16,54 $\pm$ 1,13	22,18 $\pm$ 1,21 134% P<0,01
V 3	73,00 $\pm$ 4,22	86,37 $\pm$ 4,20 118% P<0,05	45,86 $\pm$ 5,43	61,51 $\pm$ 7,70 134% P<0,05	53,78 $\pm$ 1,13	67,51 $\pm$ 3,10 126% P<0,002
V 4	36,55 $\pm$ 5,80	39,94 $\pm$ 4,76 109% P>0,5	22,46 $\pm$ 1,55	27,82 $\pm$ 2,32 124% P<0,05	25,69 $\pm$ 1,76	31,96 $\pm$ 1,78 124% P<0,01
ДКЛ	3,99 $\pm$ 0,25	4,08 $\pm$ 0,22 102% P>0,5	3,28 $\pm$ 0,25	3,39 $\pm$ 0,28 103%	3,31 $\pm$ 0,20	3,08 $\pm$ 0,18 93% P>0,5
ДКЧ	2,20 $\pm$ 0,26	2,33 $\pm$ 0,24 106% P>0,5	2,06 $\pm$ 0,23	2,21 $\pm$ 0,18 107% P>0,5	2,14 $\pm$ 0,14	2,13 $\pm$ 0,07 99%
ЛДФ	1,68 $\pm$ 0,12	1,48 $\pm$ 0,18 88% P<0,05	1,97 $\pm$ 0,14	1,75 $\pm$ 0,11 89% P>0,1	1,94 $\pm$ 0,07	1,68 $\pm$ 0,12 87% P>0,1
V 0						
V 0	121,18 $\pm$ 18,82	127,24 $\pm$ 9,54 104%	88,68 $\pm$ 8,00	104,92 $\pm$ 12,39 118% P<0,05	104,01 $\pm$ 8,08	112,50 $\pm$ 7,47 108% P<0,01

Примечание: Приведены средние данные из
6-8 опытов.

Влияние глутаминовой кислоты на дыхание митохондрий
печени при острой гипоксии (субстрат — сукцинат)

Показа- тели	Гипоксия 30 минут		Гипоксия 60 минут		Гипоксия 120 минут	
	Контроль	Вводился глутамат	Контроль	Вводился глутамат	Контроль	Вводился глутамат
V 4 до	21,48 $\pm$ 1,41	22,31 $\pm$ 1,50 104% P>0,1	18,11 $\pm$ 1,66	18,76 $\pm$ 1,15 103%	22,18 $\pm$ 1,21	20,63 $\pm$ 1,62 93% P<0,1
V 3	86,37 $\pm$ 4,20	92,12 $\pm$ 5,57 107% P>0,1	61,51 $\pm$ 7,70	71,33 $\pm$ 7,12 116% P<0,1	67,51 $\pm$ 3,10	67,96 $\pm$ 2,56 101%
V 4	39,94 $\pm$ 4,76	42,53 $\pm$ 3,09 107%	27,82 $\pm$ 2,32	30,12 $\pm$ 2,08 108% P>0,1	31,96 $\pm$ 1,78	31,79 $\pm$ 2,26 99%
ДКЛ	4,08 $\pm$ 0,22	4,18 $\pm$ 0,28 102%	3,39 $\pm$ 0,28	3,77 $\pm$ 0,23 111% P>0,1	3,08 $\pm$ 0,18	3,30 $\pm$ 0,14 107% P<0,1
ДКЧ	2,33 $\pm$ 0,24	2,21 $\pm$ 0,16 94%	2,21 $\pm$ 0,18	2,35 $\pm$ 0,16 106%	2,13 $\pm$ 0,07	2,14 $\pm$ 0,10 100%
АДФ:О	1,48 $\pm$ 0,13	1,46 $\pm$ 0,08 98%	1,75 $\pm$ 0,11	1,81 $\pm$ 0,08 103%	1,68 $\pm$ 0,12	1,80 $\pm$ 0,09 107% P<0,1
V Φ	127,24 $\pm$ 9,54	134,67 $\pm$ 11,03 107% P>0,1	104,92 $\pm$ 12,32	125,14 $\pm$ 9,68 119% P<0,05	112,50 $\pm$ 7,47	121,81 $\pm$ 5,92 108% P<0,1

Примечание: Приведены средние данные из
8 опытов.

Результаты, представленные в таблице 7, свидетельствуют о том, что достоверных изменений в показателях тканевого дыхания под влиянием глутаминовой кислоты при гипоксии не обнаружено. Однако имеется тенденция к увеличению скорости дыхания в третьем метаболическом состоянии (v_3) и интенсивности фосфорилирования АДФ в АТФ (v_{Φ}). Эти и ранее приведенные результаты по спектрофотометрическому определению влияния глутаминовой кислоты на активность сукцинатдегидрогеназы (табл. 5) позволяют сделать вывод о том, что глутамат действует на активность СДГ в митохондриях печени подобно острой гипоксии. Обсуждаемые результаты иллюстрируются на рисунке 7.

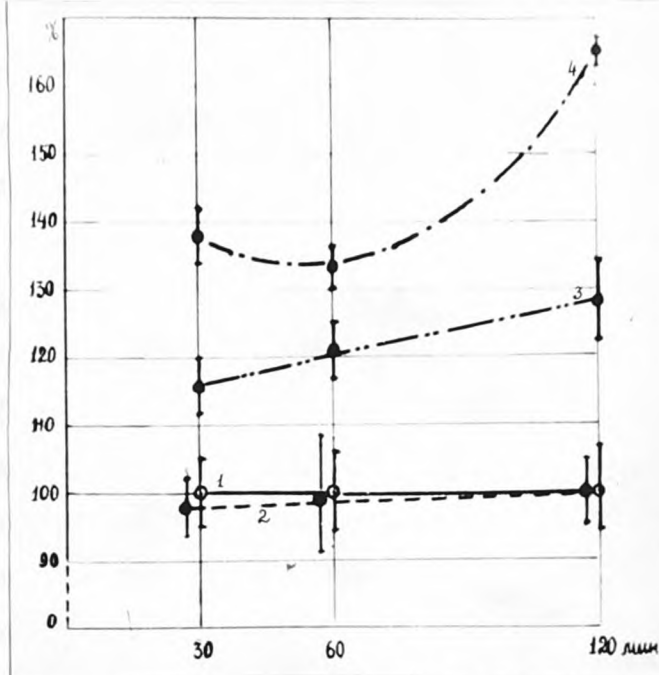


Рис. 7. Влияние гипоксии и глутамата натрия на активность СДГ в митохондриях печени.

Обозначения: норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2); гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4).

Под действием острой гипоксии происходит стимуляция сукцинатдегидрогеназной активности (кривая 3). В аналогичных условиях опыта при введении в организм глутаминовой кислоты активность СДГ еще более повышается (кривая 4) по сравнению с контролем (кривые 1, 2).

Таким образом, компенсаторная реакция организма со стороны митохондрий печени на воздействие гипоксии заключается в переходе их в лабильно сопряженное состояние и в стимуляции сукцинатдегидрогеназной активности. Глутаминовая кислота на этом фоне, являясь источником янтарной кислоты и стимулируя сукцинатдегидрогеназную активность, оказывает адаптогенное действие и усиливает естественные реакции митохондрий в ответ на гипоксию.

При недостатке кислорода в организме наибольшую нагрузку испытывают такие органы, как сердце и почки. Поэтому следующие серии опытов были посвящены исследованию активности сукцинатдегидрогеназы в митохондриях указанных органов. Параллельное определение тканевого дыхания не производилось в связи с тем, что количество митохондрий, которое представлялось возможным выделить из сердца и почек одной белой крысы, было недостаточно для одновременного определения тканевого дыхания и активности ферментов.

В таблице 8 представлены результаты по влиянию гипоксии и глутамата на активность сукцинатдегидрогеназы в митохондриях сердца и коркового слоя почек. Пребывание животных в барокамере на "высоте" 8000 метров в течение часа не приводит к заметным изменениям активности СДГ в митохондриях обоих органов (группы I и 3) по сравнению с контрольными животными, находившимися в нормальных условиях.

В нормальных условиях опытов (табл. 8) глутаминовая кислота не влияет на активность СДГ в митохондриях сердца, но стимулирует ее в гранулах почек на 20%. При гипоксии глутамат оказывает выра-

Активность сукцинатдегидрогеназы в митохондриях сердца и коркового слоя почек белых крыс после 60-минутной гипоксии и введения глутаминовой кислоты (Ена 1 мг белка митохондрий за 1 мин)

№№	С е р д ц е				П о ч к и			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
I	0,200	0,307	0,333	0,394	0,249	0,261	0,281	0,313
2	0,245	0,200	0,300	0,323	0,210	0,288	0,250	0,275
3	0,225	0,227	0,308	0,333	0,158	0,177	0,208	0,248
4	0,318	0,386	0,290	0,363	0,150	0,222	0,210	0,325
5	0,250	0,228	0,208	0,272	0,205	0,261	0,188	0,231
6	0,228	0,230	0,225	0,280	0,222	0,221	0,145	0,200
7	0,187	0,300	0,208	0,300	0,166	0,260	0,142	0,194
8	0,220	0,220	0,205	0,247	0,214	0,200	0,143	0,178
9	0,160	0,185	0,230	0,291	0,175	0,200	0,140	0,187
10	0,225	0,250	—	—	0,200	0,263	—	—
11	0,300	0,370	—	—	0,237	—	—	—
$M \pm$	0,232	0,252	0,255	0,311	0,196	0,235	0,189	0,239
$\pm M$	0,013	0,017	0,016	0,015	0,008	0,011	0,017	0,018
%	100	108 ^X	109 ^X	121 ^{XX}	100	120 ^X	97 ^X	126 ^{XX}
P	—	>0,5	>0,5	<0,01	—	<0,01	>0,5	<0,05

П р и м е ч а н и е : 1, 3 — вводился физиологический раствор;

2, 4 — вводилась глутаминовая кислота;

%^X — сравниваются с группами 1;

%^{XX} — сравниваются группы 3 и 4.

женный стимулирующий эффект на активность дегидрогеназы янтарной кислоты в митохондриях обоих органов (группы 3 и 4). Так, активность этого фермента в митохондриях сердца и коркового слоя почек под влиянием глутамата увеличивается на 21 и 26% соответственно. Вы - сказанное положение наглядно иллюстрируется на рисунках 8 и 9 (все результаты сравниваются с группами I, принятыми за 100%). Как видно из рисунков, под действием глутаминовой кислоты наиболее выраженная стимуляция активности сукцинатдегидрогеназы в митохондриях сердца и почек наблюдается в условиях гипоксии.

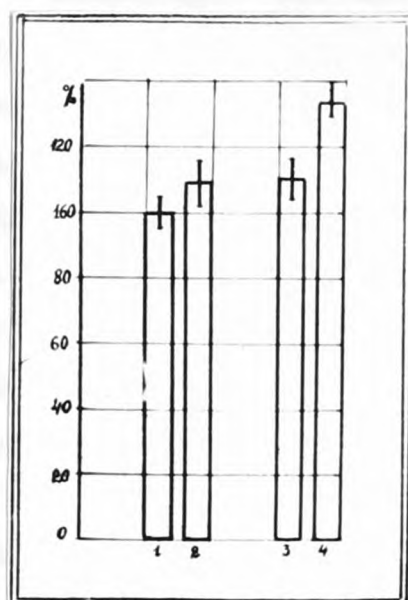


Рис. 8

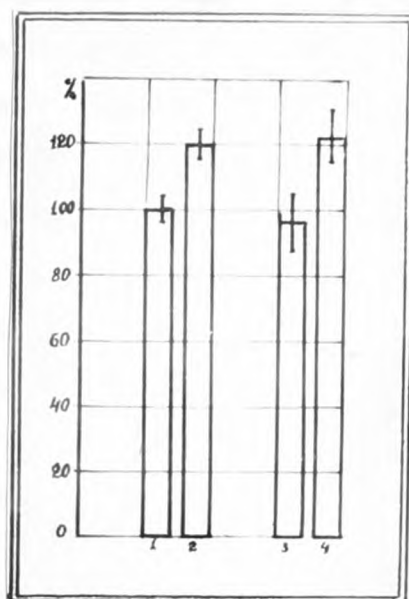


Рис. 9

Влияние гипоксии (60 минут) и глутамата натрия на активность СДГ в митохондриях сердца (рис.8) и коркового слоя почек (рис.9). Обозначения: норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2); гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что активность сукцинатдегидрогеназы в митохондриях печени, сердца и почек под влиянием острой гипоксии изменяется неодинаково. Если в митохондриях печени она увеличивается, то в гранулах сердца и почек активность СДГ остается на уровне контроля. Однако действие глутамата на этот фермент в митохондриях печени, сердца и почек остается однозначным, и наиболее выраженный стимулирующий эффект данного соединения проявляется в условиях гипоксии.

Определяя активность сукцинатдегидрогеназы, мы фактически изучали активность комплекса ферментов, занимающего ключевые позиции в регуляции реакций цикла Кребса и ферментов дыхательной цепи.

Молекулярный вес высокоочищенного, выделенного из сердца быка сукцинат-цитохром С-оксидоредуктазного комплекса колеблется в пределах 150000 и более 200000. В его состав входят один моль флавина, 8 молей негеминового железа и 8 молей кислотно лабильных сульфгидрильных групп (M. Baginsky, Y. Hatefy, 1969; D.O. Hall, I.M. Palmer, 1969; W.C. Kenney и соавт., 1970). Предполагается наличие двух путей переноса электронов от сукцината на цитохром С. Один из них связан с убихиноном, другой — с цитохромом В (T. Steger Bayard, 1968).

Выяснению механизмов регуляции сукцинатоксидазной системы посвящено большое количество работ (D. Kellin, E.F. Harfree, 1945; D.B. Tyler, 1955; B. Chance, G. Hollunger, 1961; E.A. Jones и соавт., 1963; D.F. Wilson и соавт., 1969). Большинство авторов полагают, что регуляция сукцинатоксидазной системы тесно связана с концентрацией эндогенных субстратов митохондрий, с количеством окисленных и восстановленных форм пиридиннуклеотидов и с соотношением АТФ : АДФ + Ф. Из субстратов дыхания митохондрий ведущее место в регуляции СДГ принадлежит глутаминовой и щавелевоуксусной кислотам.

Щавелевоуксусная кислота является мощным ингибитором окисления сукцината. Ингибирующее действие этой кислоты на активность СДГ осуществляется по конкурентному типу (A.B.Parde, V.R.Poter, 1948; D.V.Tyler, 1955; E.A.Jones, H.Gutfreund, 1963; A.B.Wojtczak, L.Wojtczak, 1964; A.Д.Виноградов, 1967, 1967a, 1972; W.P.Zeylemaker и соавт., 1965, 1969; L.Wojtczak и соавт., 1966, 1969; Н.И.Зимакова, А.Д.Виноградов, 1969, 1971).

В литературе имеются данные о том, что щавелевоуксусная кислота имеет в 1000 раз большее сродство к сукцинатдегидрогеназе, чем янтарная кислота (Д.М.Михлин, 1960). Если принять это положение, то при физиологических концентрационных соотношениях янтарной кислоты и ЩУК окисление сукцината в организме было бы очень медленным или совсем невозможным.

Исследованиями последних лет показано, что щавелевоуксусная кислота может реагировать со свободной СДГ и что скорость реакции янтарной кислоты с сукцинатдегидрогеназой выше, чем со ЩУК (А.Д.Виноградов, Г.И.Кондрашов, 1968).

В митохондриях существуют механизмы, с помощью которых регулируется концентрация эндогенной щавелевоуксусной кислоты. В прочно сопряженных митохондриях СДГ не является лимитирующим фактором окисления янтарной кислоты (А.Д.Виноградов, 1967) и лишь в присутствии динитрофенола или в лабильно сопряженных митохондриях в третьем метаболическом состоянии, когда имеется энергетический дефицит, стимуляция окисления сукцината быстро сменяется его ингибированием (B.Chance, B.Nagihara, 1962; М.Н.Кондрашова, 1969). Торможение сукцинатдегидрогеназы в этих условиях наступает в связи с усиленным образованием ЩУК в цикле Кребса (А.Д.Виноградов, Г.И.Кондрашов, 1968; М.Н.Кондрашова, 1968).

Типичным признаком щавелевоуксусного торможения СДГ является

утрата энергетической регуляции дыхания в митохондриях, которая выражается в снижении реакции дыхательной цепи на добавленную АДФ (М.Н.Кондрашова, 1969, 1970, 1971).

Синтез щавелевоуксусной кислоты может происходить не только при осуществлении последовательных реакций цикла Кребса, но и в других реакциях. Например, при повышении концентрации пирувата, ацетил-КоА и углекислого газа происходит активация пируваткарбоксилазы и усиление образования щавелевоуксусной кислоты. Этому механизму синтеза ЩУК в физиологических условиях отводится значительное место (S.Пара и др., 1969; W.R.Mc.Clure, H.A.Lardy, 1971). Мы полагаем, что за счет карбоксилазной реакции в условиях гипоксии образование ЩУК может происходить в значительных количествах. При дефиците кислорода происходит накопление пирувата, ацетил-КоА, углекислого газа и АДФ и создаются благоприятные условия для синтеза щавелевоуксусной кислоты. Однако при гипоксии накопления щавелевоуксусной кислоты в значительных количествах происходить не может в связи с тем, что при этом состоянии в тканях накапливается большое количество восстановленных пиридиннуклеотидов, которые, окисляясь, восстанавливают ЩУК в яблочную кислоту с последующим обращением цикла Кребса, вплоть до образования янтарной кислоты. Синтез янтарной кислоты при гипоксии происходит также и в глиоксилатном цикле, возможность реализации которого в организме животных показана М.Н.Кондрашовой (1971). Этому механизму удаления ЩУК и снятию ингибирования сукцинатдегидрогеназы придается большое значение (B.Chance, B.Nagihara, 1962; A.M.Robertson, 1966; М.Н.Кондрашова, 1967; L.A.Fabien, M.Stremski, 1969; A.B.Wojtczak, 1969; E.Cristea, I.Mihalescu, 1970).

По всей вероятности, при кислородном голодании происходят циклические изменения активности сукцинатокислородной системы, зависящие от концентрации эндогенной щавелевоуксусной кислоты и сукци-

ната. В лабильно сопряженных митохондриях (см. также наши данные табл. 6) активируется дыхание в третьем метаболическом состоянии и увеличивается образование ЩУК, которая, накапливаясь, ингибирует СДГ. В дальнейшем ЩУК начинает восстанавливаться и переходить в сукцинат (М.Н.Кондрашова, 1971). Создается такая ситуация, когда снижение концентрации щавелевоуксусной кислоты неизбежно сопровождается повышением количества янтарной кислоты с последующим снятием щавелевоуксусного торможения и активацией СДГ. Цикличность изменений окисления янтарной кислоты в зависимости от концентрации ЩУК показана В. Cristea, I. Mihailescu (1970). Кроме того, в условиях гипоксии накопление эндогенной янтарной кислоты имеет большое значение для последующего восстановления энергетического обмена в организме. Известно, что эндогенный сукцинат окисляется в 10 раз быстрее экзогенного (В. Chance, G. Hollunger, 1961a; E. A. Jones, H. Gutfreund, 1964), при этом окисление эндогенной янтарной кислоты способствует повышению скорости окисления добавленного сукцината (E. C. Weinbach, 1961; D. Bellamy, 1961).

В условиях высокой активности СДГ поток электронов с сукцината монополизирует дыхательную цепь, подавляя активность НАД-зависимых дегидрогеназ (Н. Krebs и др., 1961; В. Chance, G. Hollunger, 1961a; А. Ленинджер, 1966).

Прямое отношение к регуляции активности сукцинатдегидрогеназы имеет глутаминовая кислота. Стимуляция окисления янтарной кислоты при гипоксии под влиянием глутаминовой кислоты, вероятно, обусловлена тем, что глутамат в митохондриях окисляется преимущественно в реакциях переаминирования со щавелевоуксусной кислотой. При этом щавелевоуксусная кислота переходит в аспарагиновую кислоту, что способствует стимуляции сукцинатдегидрогеназной активности (Н. Gutfreund и соавт., 1961; S. Para и соавт., 1969; М.Н.Кондрашова,

1969). Продукт обмена этой реакции — α -кетоглутаровая кислота является хорошим субстратом, за счет которого пополняется фонд эндогенного сукцината. Активация сукцинатоксидазной системы под влиянием глутамата обеспечивает быстрое окисление образующейся янтарной кислоты, а также повышение стационарной концентрации АТФ в тканях. Подтверждением высказанного положения являются работы, в которых показано, что глутаминовая кислота способствует нормализации энергетического обмена в тканях при гипоксии (А.М.Ренкин, Н.А.Удинцев, 1958; К.М.Гефтер и др., 1961, 1962, 1962а, 1966; А.В.Захарова, 1962; Н.А.Глотов, 1967).

Таким образом, сукцинатоксидазная система в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек по-разному реагирует на острую кислородную недостаточность. Если в митохондриях печени наблюдается стимуляция активности сукцинатдегидрогеназы, то в митохондриях сердца и почек существенных изменений в активности этого фермента не обнаружено. Однако под влиянием глутамата в условиях гипоксии активность сукцинатдегидрогеназы повышается в митохондриях печени, сердца и почек. Повышение активности сукцинатоксидазной системы в митохондриях печени при кратковременной гипоксии можно расценивать как адаптационный механизм к недостатку кислорода в организме. Глутамат, стимулируя активность СДГ, усиливает приспособительные механизмы организма к острой гипоксии.

2. АКТИВНОСТЬ ГЛУТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ, СЕРДЦА И ПОЧЕК ПРИ ГИПОКСИИ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

Глутаматдегидрогеназа относится к числу ферментов, занимающих ключевые позиции в цепи химических реакций, участвующих в белковом и углеводном обмене.

Благодаря разработке методов получения глутаматдегидрогеназы в кристаллическом виде (I.A.Olson, C.B.Anfinsen, 1952, 1953;

C.S.King, C.Frieden , 1970), структура и свойства ее довольно хорошо изучены. Молекулярный вес глутаматдегидрогеназы, по данным авторов, колеблется от $3 \cdot 10^5$ (C.V.Huang , C.Frieden , 1969; K.S.King , S.Frieden , 1970) до $2 \cdot 10^6$ (B.A.Olson , C.B.Aufinsen , 1952; H.J.Strecker , 1953). Молекула глутаматдегидрогеназы состоит из 6-8 субъединиц (H.Sund , W.Burchard , 1968; H.Sund и соавт. , 1969; C.S.King , C.Frieden , 1970). На одну молекулу фермента с молекулярным весом 10^6 приходится 120 сульфгидрильных групп (L.Hellerman и др., 1958) , 4 прочно связанных атома цинка (I.S.Adelstein , B.L.Vallee , 1958) и имеется 16 точек, способных связывать НАД или НАДФ (П.Томкинс, Милдинг, 1964).

Исследованиями последних лет показано, что глутаматдегидрогеназа относится к митохондриальным ферментам (G.H.Hogeboom , G.Schneider , 1950; D.Brdiczka и др., 1968; А.А.Покровский и др., 1968).

В связи с тем, что в условиях гипоксии происходят значительные изменения в метаболизме митохондрий, представляло интерес исследовать влияние кислородного голодания, а также глутаминовой кислоты на активность глутаматдегидрогеназы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек.

Активность глутаматдегидрогеназы определялась в разные сроки гипоксии и после введения в организм глутаминовой кислоты.

Из результатов таблицы 9 видно, что под влиянием острой гипоксии активность дегидрогеназы глутаминовой кислоты в митохондриях печени снижается (сравниваются I и 3 группы). Так, после 30 и 60-минутной гипоксии она составляет 79% и после 120-минутной — 83% по сравнению с активностью указанного фермента митохондрий, выделенных из печени животных контрольной группы, находившихся в нормальных условиях опытов.

Таблица 9

Активность глутаматдегидрогеназы в митохондриях печени
в разные сроки введения физиологического раствора
и глутаминовой кислоты в норме и при гипоксии
(в мкМ на 1 мг белка митохондрий в 1 мин)

№ №	Через 30 минут				Через 1 час				Через 2 часа			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	18	13	13	18	25	21	16	22	15	19	10	20
2	25	15	19	20	15	22	11	19	15	22	12	23
3	17	19	13	18	19	12	11	23	26	15	15	19
4	16	20	13	19	20	21	19	28	20	20	14	18
5	20	16	17	21	20	20	17	24	16	24	14	19
6	21	20	17	20	19	23	13	23	25	14	21	16
7	-	22	18	18	19	19	23	23	14	28	17	24
8	-	24	13	14	24	-	15	22	17	-	12	23
9	-	-	-	-	-	-	14	17	20	-	15	20
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16	19
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23
М±	19	18	15	18	19	20	15	23	18	20	15	20
м	1,3	1,3	0,9	0,8	1,1	1,4	1,3	1,0	1,5	1,8	0,3	0,7
%	100	95 ^х	79 ^х	120 ^{хх}	100	105 ^х	79 ^х	153 ^{хх}	100	111 ^х	83 ^х	133 ^{хх}
Р			<0,01	<0,001			<0,05	<0,01			<0,05	<0,001

Примечания: 1, 3 - вводился физиологический раствор;

2, 4 - вводилась глутаминовая кислота;

$\frac{\%}{\%}$ - сравниваются с группой 1;

$\frac{\%}{\%}$ - сравниваются группы 3 и 4.

Подобные сдвиги в активности ГДГ имеют место и в митохондриях коркового слоя почек после 60-минутной гипоксии (табл. 10). Если в контрольной группе активность ГДГ составляет 12,4 мМ, то в постгипоксических митохондриях она равна 10,8 мМ, т.е. активность глутаматдегидрогеназы снижается на 13%.

Иначе реагирует на гипоксию митохондрии сердца (табл. 10). В митохондриях этого органа активность глутаматдегидрогеназы не отличается от таковой интактных животных.

Различия в реакции глутаматдегидрогеназы в митохондриях почек, печени и сердца обусловлены, вероятно, тем, что в митохондриях печени и почек этот фермент имеет более высокую активность и, следовательно, вносит больший вклад в обмен этих органов, чем в сердечной мышце (P. Borst, 1962). В свежеизолированных митохондриях сердца всего лишь 10% глутаминовой кислоты окисляется в глутаматдегидрогеназной реакции и 90% — посредством переаминирования со щавелевоуксусной кислотой (D. Naan и др., 1964). Поэтому глутаматдегидрогеназа по сравнению с аминотрансферазой имеет меньшее значение в обмене веществ сердечной мышцы. Вероятно поэтому активность ГДГ в митохондриях сердца не изменяется под действием острой гипоксии. Нельзя не учитывать также и того факта, что этот жизненно важный орган в период гипоксии испытывает интенсивную нагрузку. Для обеспечения его работы организм максимально мобилизует свои резервы, удовлетворяющие потребности сердечной мышцы в кислороде. Компенсаторные механизмы, очевидно, справляются с поставленной задачей и обеспечивают миокард кислородом в достаточном количестве для того, чтобы поддерживать на высоком уровне метаболизм в сердечной мышце.

Глутаминовая кислота в условиях с нормальным содержанием кислорода во вдыхаемом воздухе не влияет на активность глутаматдегидрогеназы в митохондриях печени (табл. 9), сердца и коркового слоя почек (табл. 10). Однако в условиях гипоксии эта аминокислота

Таблица 10

Активность глутаматдегидрогеназы в митохондриях сердца
и коркового слоя почек после 60-минутной гипоксии
и введения глутамата натрия (в мкм на 1 мг белка митохондрий
в 1 мин).

№ №	С е р д ц е				П о ч к и			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	6,5	6,9	10,0	12,5	—	8,5	12,0	16,0
2	7,5	10,7	8,5	9,2	15,8	14,0	13,5	17,6
3	8,0	9,3	8,5	11,0	10,5	8,4	10,2	12,0
4	5,2	6,3	6,5	8,0	11,7	11,7	9,2	13,9
5	6,3	5,0	9,2	16,5	11,7	11,7	12,2	15,0
6	5,8	6,0	5,0	8,8	9,8	9,0	7,9	10,5
7	9,0	9,0	8,5	9,8	15,0	17,0	12,0	13,3
8	10,5	10,5	6,8	9,5	12,0	12,0	8,5	9,8
9	7,5	7,9	—	—	15,0	15,0	—	—
10	9,0	9,0	—	—	13,5	12,5	—	—
M±	7,5	8,0	7,8	10,6	12,4	12,0	10,8	13,5
m	0,5	0,6	0,5	1,0	0,6	0,9	0,6	0,9
%	—	106 ^x	104 ^x	135 ^{xx}	100	94 ^x	87 ^x	125 ^{xx}
P				<0,05			=0,05	<0,05

П р и м е ч а н и я : 1, 3 — вводился физиологический раствор;
2, 4 — вводился глутамат натрия;
%^x — сравниваются с группами 1;
%^{xx} — сравниваются группы 3 и 4.

оказывает стимулирующее влияние на дегидрогеназу глутаминовой кислоты в митохондриях печени, сердца и почек. Так, активность указанного фермента в митохондриях, выделенных из печени животных, находившихся 30, 60 и 120 минут в условиях гипоксии, превышает таковую у контрольных животных (группы 4) на 20, 53 и 33% соответственно (табл. 9). В митохондриях сердца повышение глутаматдегидрогеназной активности под влиянием глутамата после 60-минутной гипоксии составляет 35%, а в почках - 25% (табл. 10).

Если сравнивать результаты с первыми группами животных, принимая эти данные за 100% (рис. 10, 11, 12), то выявляется следующее: ингибирующее действие острой гипоксии на активность глутаматдегидрогеназы полностью устраняется под влиянием глутаминовой кислоты. Так, в митохондриях почек происходит нормализация активности ГДГ, а в митохондриях сердца и коркового слоя почек активность этого фермента значительно выше по сравнению с контрольными группами.

Регуляция глутаматдегидрогеназной активности осуществляется широким кругом различных веществ: динуклеотидами, субстратами, ГТФ, АТФ, АДФ, ГДФ, гормонами и катионами металлов (I. Struck, V. I. Sizemore, 1960; S. Grisolia и др., 1961; I. Wolf, 1952, 1962a; K. L. Yelding и др., 1961; R. Colman, C. Frieden, 1966, 1966a; G. A. Kfoury, I. G. Reinhold, 1968; H. B. Le John и др., 1969; E. Kuri и др., 1969). Предполагают, что в гигантской молекуле ГДГ имеются несколько центров, к которым присоединяются соответствующие соединения, оказывающие влияние на активность фермента (Г. Томкинс, К. Иллинг, 1964; В. П. Скулачев, 1969). Большинство веществ, изменяющих активность глутаматдегидрогеназы, являются аллостерическими эффекторами (N. Talal, G. M. Tomkins, 1964; R. B. Freedman, G. K. Radda, 1969).

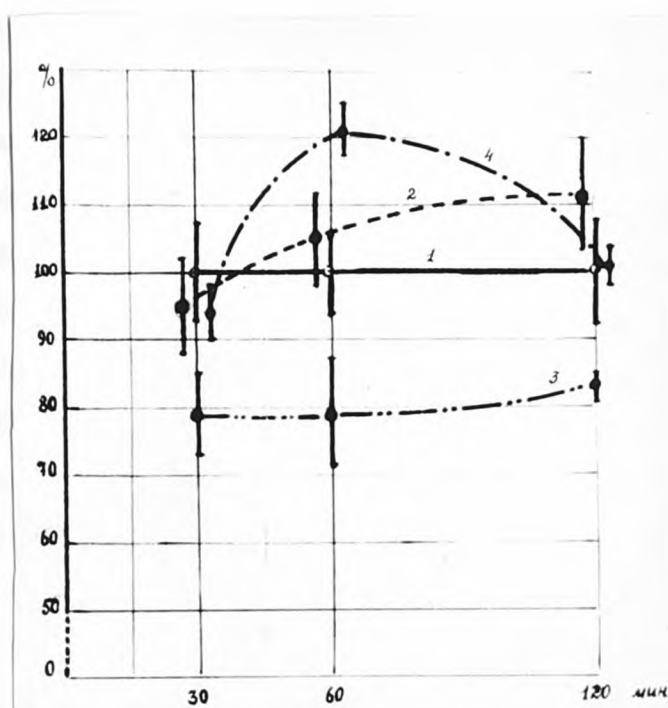


Рис. 10

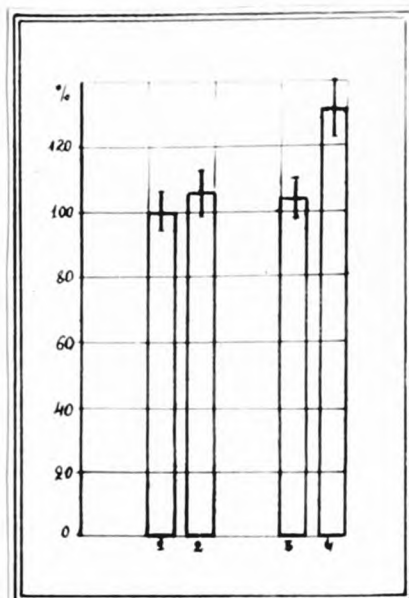


Рис. 11

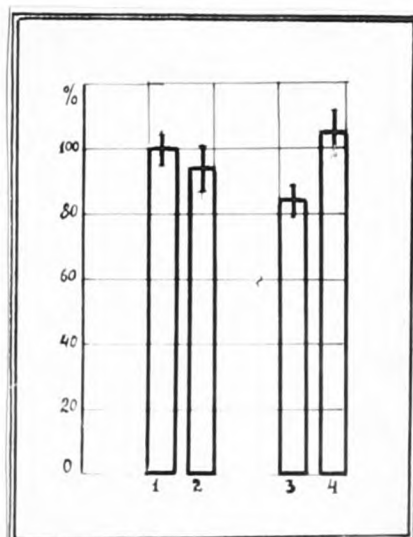


Рис. 12

Активность ГДГ в митохондриях печени (рис. 10), сердца (рис. 11) и коркового слоя почек (рис. 12) при гипоксии и под влиянием глутамата натрия (в % к первым группам). Обозначения: норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2); гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4).

Выявлена интересная роль пиридиннуклеотидов в деятельности глутаматдегидрогеназы. Оказалось, что НАД и НАДФ являются не только коферментами ГДГ, но также способны присоединяться к аллостерическим центрам ГДГ и оказывать влияние на активность глутаматдегидрогеназы. Восстановленные формы НАД и НАДФ являются ингибиторами, а окисленные — стимуляторами активности ГДГ. Между окисленными и восстановленными формами НАД и НАДФ существует конкуренция за аллостерический центр фермента (L. Colman, N.O. Kaplan, 1965; В.П.Скулачев, 1969; F.G. Lehmann, 1969). Поэтому одной из причин, которая способствует снижению активности ГДГ при гипоксии, наблюдаемой в наших опытах на митохондриях печени и почек, является накопление восстановленных форм НАД и НАДФ в тканях.

Многими авторами показано, что активность глутаматдегидрогеназы ингибируется АТФ, ГТФ и ГДФ и стимулируется АДФ (S. Grisolia и др., 1961; R.F. Colman, C. Frieden 1966a; C. Huang, C. Frieden 1969; В.И.Яковлева, Л.С.Губницкий, 1970).

Несколько парадоксальным кажется тот факт, что в условиях гипоксии, когда имеется значительный энергетический дефицит, накопление АДФ должно было сопровождаться стимуляцией активности глутаматдегидрогеназы, однако в наших опытах наблюдается снижение активности этого фермента. Такое расхождение, очевидно, обусловлено тем, что в условиях гипоксии в одинаковой степени происходит повышение содержания восстановленных форм пиридиннуклеотидов и АДФ. По всей вероятности, восстановленные НАД и НАДФ, являясь ингибиторами ГДГ, препятствуют активирующему действию аденозиндифосфорной кислоты на активность глутаматдегидрогеназы. Помимо этого, имеются данные, свидетельствующие об ингибирующем действии АДФ на активность ГДГ, выделенной из печени человека (F.G. Lehman, 1969). Известно также, что при дезагрегации молекулы глутаматде-

гидрогеназы утрачивается активность и специфичность этого фермента (П.Томкинс, К.Иллинг, 1964; М.В.Магар, 1965; G.M.Tomkins и др., 1965; Н.Сунд, М.Бурчард, 1968). Электронно-микроскопическими исследованиями показано, что под влиянием гипоксии резко изменяется морфология митохондрий: увеличивается проницаемость мембран, набухает и просветляется матрикс (Г.М.Франк, 1964; Ю.С.Чечулин и др., 1964; В.Ф.Машанский и др., 1971). Указанные изменения в морфологии митохондрий могут привести к потере эндогенных пиридиннуклеотидов и к таким конформационным изменениям в структуре ГДГ, которые могут быть причиной снижения активности фермента.

Стимулирующий эффект глутаминовой кислоты на активность глутаматдегидрогеназы имеет сложный механизм. После введения глутамата концентрация его в тканях белых крыс повышается и приходит к норме через 1,5 - 2 часа (А.М.Генкин, А.П.Никифоров, 1967). Повышение концентрации глутаминовой кислоты может сопровождаться мобилизацией неактивного фонда глутаматдегидрогеназы и увеличением количества активных молекул фермента. Эта точка зрения базируется на данных литературы, которыми показано, что в обычных условиях скорость химических реакций обеспечивается лишь частью ферментов, имеющихся в клетке, другая часть энзима находится в неактивной форме и мобилизуется по мере надобности (В.С.Ильин, 1964; С.Е.Северин, 1969; В.П.Скулачев, 1969). Кроме того, глутаминовая кислота, стимулируя аэробные окислительные процессы при гипоксии (А.М.Генкин, Н.А.Глотов, 1967), способствует нормализации обменных процессов в тканях (А.М.Генкин, Н.А.Удинцев, 1959; Ю.М.Гефтер и др., 1962; М.А.Добрянская, 1962) и препятствует низкоэнергетическому сдвигу в метаболическом состоянии митохондрий (Е.И.Маевский, 1970). Все это в конечном итоге должно сопровождаться повышением стандартной концентрации АТФ (активатор ГДГ), снижением АДФ и

стимуляцией глутаматдегидрогеназной активности.

Известно также, что глутаминовая кислота является источником эндогенного α -кетоглутарата для митохондрий (А.Е.Браунштейн, 1939, 1949, 1959; А.Ленинджер, 1966), который защищает глутаматдегидрогеназу от действия инактивирующих агентов (R.Freedman, G.Radda, 1969).

Таким образом, под действием острой гипоксии происходит снижение активности дегидрогеназы глутаминовой кислоты в митохондриях печени и коркового слоя почек. Глутаминовая кислота в условиях гипоксии стимулирует, а в нормальных условиях не влияет на активность глутаматдегидрогеназы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек.

3. АКТИВНОСТЬ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ, СЕРДЦА И ПОЧЕК ПРИ ГИПОКСИИ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

Малатдегидрогеназа имеет важное значение в регуляции содержания эндогенной щавелевоуксусной кислоты в митохондриях. С участием МДГ при осуществлении прямых реакций цикла Кребса происходит синтез ЦУК. Особенно интенсивный синтез щавелевоуксусной кислоты происходит в лабильно сопряженных митохондриях при энергетическом дефиците (М.Н.Кондрашова, 1969, 1970). Один из путей устранения избытка щавелевоуксусной кислоты связан с восстановлением ее в яблочную кислоту с последующим обращением цикла Кребса вплоть до образования янтарной кислоты (М.Н.Кондрашова, 1971). Последняя реакция может реализоваться при гипоксии.

Имеются сведения и о том, что малатдегидрогеназа участвует в глюконеогенезе (I.Devise, D.Gibson, 1969) и играет важную роль в регуляции обмена углеводов, белков и жиров (Д.М.Михлин, 1960). Как отмечалось выше, существует тесная взаимосвязь метаболизма глутаминовой кислоты с яблочной, щавелевоуксусной и янтарной кислотами.

В связи с изложенным представлялось целесообразным исследовать влияние гипоксии и глутаминовой кислоты на активность малатдегидрогеназы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек белых крыс.

Малатдегидрогеназа диффузно распространена в субклеточных структурах. Различают митохондриальную и цитоплазматическую МДГ (C.I.R.Thorne, 1960; C.I.R.Thorne, P.M.Cooper, 1964; R.K.Gerdling, R.G.Wolfe, 1969; R.Marco и др., 1969; M.Serban и др., 1970), которые отличаются друг от друга по энзиматической активности и электрофоретической подвижности. Кроме того, имеется еще малатдегидрогеназа декарбоксилирующая, которая катализирует реакцию декарбоксилирования яблочной кислоты (Д.М.Михлин, 1960; I.London и др., 1970).

В наших опытах исследовалась активность МДГ митохондрий. Молекулярный вес МДГ, по данным разных авторов, дает хорошо совпадающие величины. Высокоочищенная малатдегидрогеназа митохондрий печени белых крыс имеет молекулярный вес, равный 66300, а из сердца быка — 64000 (G.Mann Keneth, C.Vestling, 1969). Очищенная в 150 раз МДГ из почек быка обладает молекулярным весом 65000 (D.Dupourque, E.Kun, 1968). Молекула МДГ состоит из нескольких субъединиц (T.B.Shows, F.H.Ruddle, 1968).

Определение активности МДГ в митохондриях печени (табл. II) показало, что активность дегидрогеназы яблочной кислоты в митохондриях печени снижается под влиянием острой гипоксии: после 30-минутного кислородного голодания она составляет 64% от контрольной группы (группа I). Удлинение срока пребывания животных в условиях гипоксии сопровождается еще большим угнетением активности МДГ: через 1 час гипоксии она составляет 55%, а через 2 часа — 51% по отношению к контрольным группам животных. Наши результаты

Таблица II

Активность малатдегидрогеназы в митохондриях печени
в разные сроки после введения глутаминовой кислоты в норме
и при гипоксии (в мкМ на 1 мг белка митохондрий в 1 мин)

Через 30 минут				Через 1 час				Через 2 часа			
Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
I	2	3	4	I	2	3	4	I	2	3	4
32	30	26	36	36	23	24	28	30	43	26	32
34	42	19	23	38	50	19	23	34	27	19	21
36	35	25	30	36	34	16	17	40	40	20	24
38	34	18	30	46	40	20	32	35	28	19	30
36	40	22	30	40	40	17	23	42	44	15	19
39	40	21	25	32	37	20	24	40	38	19	20
40	36	20	24	36	35	18	18	-	-	18	24
36	-	-	-	26	19	21	20	-	-	19	30
-	-	-	-	24	27	22	34	-	-	-	-
-	-	-	-	23	24	14	24	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	17	22	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	19	22	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	30	-	-	-	-
36	36	23	30	34	33	19	24	37	36	19	25
0,8	1,6	1,5	2,1	2,3	3,0	0,8	1,4	1,8	3,0	1,0	1,7
100	100 ^X	64 ^X	130 ^{XX}	100	97 ^X	55 ^X	125 ^{XX}	100	95 ^X	51 ^X	132 ^{XX}
		<0,001	<0,05		>0,5	<0,001	<0,001		>0,5	<0,001	<0,001

Примечания: 1, 3 - вводился физиологический раствор;
2, 4 - вводился глутамат натрия;
%^X - сравниваются с группой 1;
%^{XX} - сравниваются группы 3 и 4.

согласуются с данными (А.А.Покровский и соавт., 1971), где показано снижение активности МДГ при ишемии печени.

Аналогичные сдвиги в активности малатдегидрогеназы при гипоксии наблюдаются и в митохондриях коркового слоя почек (табл.12). При этом острая гипоксия ингибирует активность дегидрогеназы яблочной кислоты в митохондриях почек на 17% по отношению к группе животных, находившихся в нормальных условиях опытов. Подобные результаты, но более выраженные, были получены и другими авторами при исследовании активности МДГ в корковом веществе при ишемии почек (М.Р.Howard и соавт., 1970).

Однако в митохондриях сердечной мышцы (табл. 12) острая гипоксия оказывает стимулирующее влияние на активность малатдегидрогеназы. Увеличение активности фермента составляет 25% по сравнению с контрольной группой (группа I).

В этой серии опытов, как и предыдущих, выявляется своеобразная ответная реакция митохондрий сердца на острую гипоксию, которую можно объяснить особенностями обмена в сердечной мышце.

В сердечной мышце усиленно окисляются как углеводы, так и продукты расщепления жиров. Особенно интенсивно окисление жирных кислот в миокарде идет при интенсивной нагрузке, когда обмен переключается с углеводов на жирные кислоты (М.Д.Гроздова, 1967; М.Н. Кондрашова, 1970). При этом происходит усиленное образование ацетил-КоА, который может служить источником синтеза яблочной и янтарной кислот в глиоксилатном цикле. Последний, как показано М.Н.Кондрашовой (1971), реализуется в тканях животных при интенсивных нагрузках на организм. За счет этого цикла обеспечивается интенсивное окисление жирных кислот с выделением большого количества энергии в виде АТФ. Интенсивное образование яблочной кислоты в сердечной мышце при гипоксии, очевидно, является основной причиной стимуляции малатдегидрогеназной активности в митохондриях

Таблица 12

Активность малакдегидрогеназы в митохондриях сердца и коркового слоя почек белых крыс после 60-минутной гипоксии и при введении глутаминовой кислоты (в мкм на 1 мг белка митохондрий в 1 мин)

№ №	С е р д ц е				П о ч к и			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	21,7	21,7	27,6	30,0	11,6	9,0	8,0	12,0
2	21,3	24,0	25,8	27,8	9,0	7,5	10,5	12,5
3	12,5	13,9	17,6	13,5	7,3	7,3	8,0	9,6
4	12,0	10,8	14,8	19,0	8,1	6,7	11,0	11,5
5	12,8	13,8	16,5	14,5	6,7	10,7	7,2	7,5
6	12,8	12,8	15,0	14,0	12,8	13,3	6,8	7,9
7	18,2	21,0	19,0	19,1	12,0	12,0	6,3	7,9
8	15,0	12,0	23,1	21,2	9,6	9,0	7,8	8,5
9	15,0	20,0	—	27,8	9,5	9,5	7,0	9,9
10	18,2	18,2	—	—	—	6,3	—	—
11	15,9	18,8	19,9	20,9	9,6	9,1	8,0	9,7
12	1,1	1,7	1,7	2,1	0,7	0,7	0,5	0,6
13	100	118 ^X	125 ^X	105 ^{XX}	100	94 ^X	83 ^X	121 ^{XX}
14	0,00	>0,05	>0,05	>0,5		>0,5	<0,05	<0,05

П р и м е ч а н и я : 1, 3 — вводился физиологический раствор;

2, 4 — вводился глутамат натрия;

%^X — сравниваются с группой 1;

%^{XX} — сравниваются группы 3 и 4.

этого органа.

Что касается снижения активности МДГ в митохондриях печени и коркового слоя почек при гипоксии, то оно, по-видимому, обусловлено выходом малатдегидрогеназы из митохондрий. Малатдегидрогеназа в отличие от сукцинатдегидрогеназы и дегидрогеназы глутаминовой кислоты не имеет прочной связи с мембранами митохондрий. Рядом авторов (R.Marco, I.Sebastian, A.Sols, 1969) показано, что малатдегидрогеназа локализована в матриксе митохондрий. Как уже указывалось выше, при гипоксии происходит набухание митохондрий и просветление матрикса, что сопровождается выходом ферментов из митохондрий и снижением их активности (W.Zimmerman, 1964). В литературе имеются данные, которые являются прямым доказательством выхода малатдегидрогеназы из тканей при гипоксии. Так, P.Malek и др. (1970), обнаружил увеличение активности МДГ в лимфе, оттекающей от ишемизированной скелетной мышцы. Подобные результаты были получены в опытах на печени (А.А.Покровский и др., 1971).

По-разному оказывает влияние и глутаминовая кислота на активность дегидрогеназы яблочной кислоты в митохондриях печени, коркового слоя почек и сердца. Сниженный уровень активности малатдегидрогеназы при гипоксии в митохондриях печени (табл. II) и почек (табл. I2) при введении животным глутамата восстанавливается и приближается к показателям контрольных животных. Эта закономерность четко выявляется при сравнении результатов всех серий опытов с контрольными животными. На рисунке I3 представлены опыты, где определялась активность малатдегидрогеназы в митохондриях печени при гипоксии разной продолжительности. С увеличением срока пребывания крыс в условиях гипоксии наблюдается все большее снижение активности фермента (кривая 3). Глутаминовая кислота

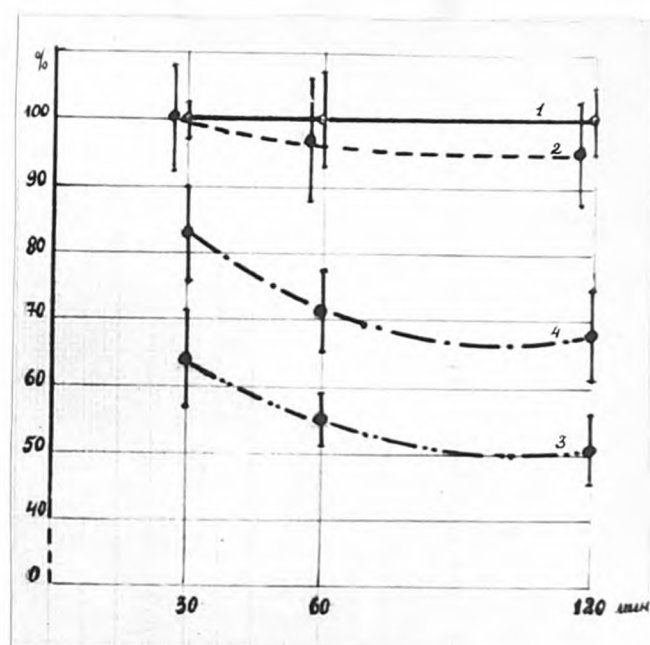


Рис. 13

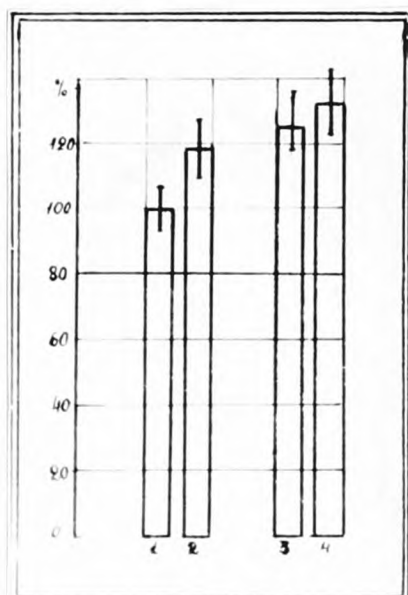


Рис. 14

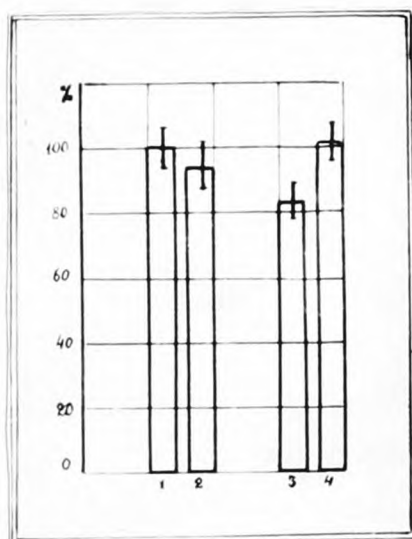


Рис. 15

Активность МДГ в митохондриях печени (рис. 13), сердца (рис. 14) и коркового слоя почек (рис. 15) (в % к первым группам). Обозначения: норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2); гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4).

(кривая 4) препятствует снижению активности малатдегидрогеназы и поддерживает ее на более высоком уровне. Аналогичные сдвиги в активности дегидрогеназы малата наблюдаются и в митохондриях почек (рис. 15). Однако в митохондриях сердца (рис. 14), где имело место повышение активности МДГ при гипоксии, глутамат не оказывает влияния на активность этого фермента.

Следует также отметить, что в нормальных условиях опытов глутаминовая кислота не изменяет скорость окисления яблочной кислоты в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек (рис. 13, 14, 15, кривая 2).

Стимуляция глутаминовой кислотой активности МДГ в условиях гипоксии может осуществляться несколькими путями. Известно, что ингибитором окисления малата является щавелевоуксусная кислота (L.A.Fahien, M.Stremski, 1969). Ингибирующее действие ЦУК на малатдегидрогеназу может быть устранено за счет стимуляции гуанидинтрифосфатом восстановления ЦУК в малатдегидрогеназной реакции (A.B.Wojtczak, 1969). Окисление α -кетоглутаровой кислоты, образующейся при вовлечении глутаминовой кислоты в цикл Кребса, сопровождается субстратным фосфорилированием с выделением ГТФ, который может стимулировать превращение ЦУК в яблочную кислоту с участием малатдегидрогеназы. Этот механизм повышения активности МДГ под действием глутамата наиболее вероятен в связи с тем, что активность указанного фермента в наших опытах определялась по восстановлению щавелевоуксусной кислоты. Снятие щавелевоуксусного торможения окисления малата может происходить в реакции переаминирования глутаминовой кислоты со ЦУК. Определенное значение в сохранении активности МДГ играет также способность глутамата улучшать энергетический обмен в митохондриях при гипоксии.

4. АКТИВНОСТЬ НАДН:ЦИТОХРОМ С-ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ, СЕРДЦА И ПОЧЕК ПРИ ГИПОКСИИ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

Определение активности комплекса НАДН:цитохром С- оксидоредуктазы позволяет получить сведения о функциональном состоянии начальных этапов дыхательной цепи, связанных с окислением НАД - зависимых дегидрогеназ в митохондриях. В комплексном исследовании активности ферментов, осуществляющих дегидрирование отдельных НАД - связанных субстратов, таких, как глутамат и малат, определение активности НАДН: цитохром - С-оксидоредуктазы позволяет определить функциональное состояние ферментных систем, расположенных между НАДН и цитохромом С. Определение активности этого комплекса важно в том плане, что при гипоксии может происходить существенная перестройка в метаболизме митохондрий, обусловленная переключением дыхания с одного субстрата на другой (М.Н.Кондрашова, 1971). Поэтому одновременное определение активности сукцинат-оксидазной системы и ферментов, осуществляющих окисление субстратов с помощью НАД в одних и тех же митохондриях, позволяет судить о взаимоотношениях этих систем и о их значении в биоэнергетике клетки в период воздействия на организм гипоксии.

Результаты, представленные в таблице 13, где определялась активность НАДН:цитохром С- оксидоредуктазы в митохондриях печени животных, находившихся в условиях гипоксии различной продолжительности, свидетельствуют о том, что после 30-минутной гипоксии активность этого комплекса ферментов снижается на 10%, после 60-минутной гипоксии - на 13%, однако через 2 часа гипоксии активность НАДН:цитохром С - оксидоредуктазы восстанавливается до уровня контрольной группы.

Снижение активности НАДН дегидрогеназного комплекса в перво-

Активность НАДН:цитохром С-оксидоредуктазы в митохондриях печени в разные сроки введения глутаминовой кислоты и физиологического раствора в норме и при гипоксии (ΔE на 1 мг белка митохондрий в 1 мин)

№ №	Через 30 минут				Через 1 час				Через 2 часа			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	I	2	3	4	I	2	3	4	I	2	3	4
I	0,427	0,458	0,410	0,509	0,500	0,458	0,452	0,382	0,541	0,409	0,382	0,423
2	0,416	0,440	0,412	0,470	0,437	0,375	0,479	0,617	0,500	0,541	0,470	0,647
3	0,461	0,398	0,454	0,474	0,416	0,361	0,440	0,575	0,475	0,500	0,461	0,578
4	0,422	0,500	0,516	0,610	0,433	0,600	0,404	0,568	0,420	0,500	0,500	0,488
5	0,446	0,490	0,467	0,458	0,423	0,562	0,344	0,684	0,420	0,400	0,588	0,700
6	0,450	0,461	0,416	0,440	0,453	0,580	0,343	0,458	0,400	0,400	0,541	0,409
7	0,490	0,530	0,461	0,520	0,500	0,431	0,416	0,375	0,552	0,400	0,500	0,541
8	0,554	0,458	0,386	0,500	0,463	0,604	0,423	0,600	0,509	0,615	0,475	0,500
9	0,458	0,502	0,342	0,453	0,485	0,463	0,466	0,522	0,642	0,501	0,410	0,500
10	0,486	0,562	0,366	—	0,570	0,528	0,411	0,613	0,613	0,625	—	0,550
11	0,500	—	—	—	0,611	0,533	—	—	—	0,646	—	—
		—	—	—	—	—	—	—	—	0,666	—	—
M $\pm$	0,468	0,479	0,423	0,491	0,481	0,499	0,417	0,548	0,507	0,516	0,480	0,547
$\pm m$	0,011	0,015	0,019	0,026	0,018	0,026	0,016	0,035	0,026	0,010	0,021	0,032
%	100	102 ^X	90 ^X	116 ^{XX}	100	104 ^X	87 ^X	131 ^{XX}	100	102 ^X	94 ^X	119 ^{XX}
P			<0,05	<0,01			<0,05	<0,001			>0,5	<0,01

Примечание: 1, 3 — вводился физиологический раствор;

2, 4 — вводился глутамат натрия;

%^X — сравниваются с группами 1;

%^{XX} — сравниваются группы 3 и 4.

начальной стадии гипоксии может быть обусловлено тем, что в этот период в митохондриях печени преимущественно окисляется янтарная кислота. Такая ситуация возможна в связи с тем, что в полуанаэробно-биозе в максимально восстановленном состоянии находится НАД и НАД-зависимые дегидрогеназы, а в более окисленном — часть дыхательной цепи, начиная с цитохрома В и далее (G.Scholz и др., 1969).

Сукцинатдегидрогеназная система выигрывает конкуренцию за ферменты дыхательной цепи и угнетает окисление восстановленного НАД. Об этом же свидетельствуют наши результаты, где показано, что в условиях гипоксии активность СДГ в митохондриях печени повышается (табл. 5), в то время как активность дегидрогеназ глутаминовой и яблочной кислот, а также окисление восстановленного НАД снижается.

Определение активности дегидрогеназы восстановленного НАД в митохондриях сердца и коркового слоя почек показало, что после 60-минутной гипоксии (группы 3) активность НАДН: цитохром С — оксидоредуктазы не отличается от таковой контрольной группы животных (табл. 14, группы 1).

В этой серии опытов прослеживается определенная зависимость между активностью сукцинатдегидрогеназы и НАДН: цитохром С — оксидоредуктазной системой. В митохондриях печени, где под влиянием острой гипоксии происходит стимуляция активности сукцинатдегидрогеназы (табл. 5), наблюдается ингибирование окисления восстановленного НАД. В митохондриях сердечной мышцы и коркового слоя почек 60-минутная гипоксия не оказывает существенного влияния на активность сукцинатдегидрогеназы и НАДН: цитохром С — оксидазного комплекса. Эти результаты еще раз подтверждают положение о том, что между сукцинатдегидрогеназой и НАДН-оксидазной системой существует конкуренция за ферменты дыхательной цепи (Н.А. Га

Таблица I4

Активность НАДН: цитохром С -оксидоредуктазы в митохондриях сердца и коркового слоя почек после 60 мин гипоксии и при введении глутаминовой кислоты (Е на I мг белка митохондрий в I мин)

№ №	С е р д ц е				П о ч к и			
	Н о р м а		Гипоксия		Н о р м а		Гипоксия	
	I	2	3	4	I	2	3	4
I	0,227	0,29I	0,29I	0,339	0,405	0,472	0,343	0,433
2	0,264	0,36I	0,250	0,284	0,379	0,444	0,350	0,368
3	0,266	0,363	0,266	0,29I	0,267	—	0,320	0,348
4	0,272	0,272	0,272	0,363	0,305	0,344	0,352	0,48I
5	0,250	0,284	0,336	0,38I	0,372	0,444	0,352	0,437
6	0,264	0,250	0,233	0,266	0,372	0,4I6	0,28I	0,342
7	0,2I8	—	0,225	0,290	0,27I	0,368	0,326	0,372
8	0,250	—	0,2I0	0,235	0,250	0,350	0,257	0,285
9	0,225	0,250	0,269	0,333	0,335	0,335	0,248	0,29I
IO	0,270	0,350	—	—	0,300	0,375	—	—
II	—	—	—	—	0,237	0,268	—	—
±	0,250	0,302	0,26I	0,308	0,3I7	0,392	0,3I4	0,373
±	±0,007	±0,003	±0,0I3	±0,0I6	±0,0I0	±0,0I5	±0,0I4	±0,02I
б	IO0	II7 ^X	IO4 ^X	II4 ^{XX}	IO0	II3 ^X	99 ^X	II8 ^{XX}
в		0,0I	0,5	0,05		0,0I	0,5	0,05

П р и м е ч а н и я : I, 3 — вводился физиологический раствор;
 2, 4 — вводился глутамат натрия;
^X — сравниваются с группами I;
^{XX} — сравниваются группы 3 и 4.

H. Wellman , 1952; B. Chance , G. Hollunger , 1961a; А.Д. Виноградов, Ю.В. Евтодченко, 1967; М.Н. Кондрашова, 1968, 1971; T. König и др., 1969) и что скорость окисления восстановленного НАД лимитируется активностью сукцинатдегидрогеназы (K.W. von Korff, 1965, 1967; G. Schäfer и др., 1967).

Инъекции глутамата натрия перед помещением животных в барокамеру сопровождаются активацией окисления восстановленного НАД в митохондриях печени (табл. 13) через 30, 60 и 120 мин гипоксии на 16, 31 и 19% соответственно (сравниваются группы 3 и 4) . На рисунке 16 показана динамика изменения активности НАДН:цитохром С-оксидоредуктазы в митохондриях печени под влиянием острой гипоксии и глутаминовой кислоты (за 100% приняты показатели первых групп). Видно, что под влиянием острой гипоксии (кривая 3) происходит снижение активности дегидрогеназы восстановленного НАД. Глутамат натрия (кривая 4) устраняет ингибирующее влияние гипоксии на активность этого комплекса ферментов.

В митохондриях сердца и коркового слоя почек (табл. 14, рис. 17, 18) глутаминовая кислота при гипоксии действует на активность НАДН - дегидрогеназы так же, как и в печени. Так, активность этого комплекса ферментов под влиянием глутаминовой кислоты при гипоксии стимулируется в митохондриях сердца на 14% и в гранулах почек - на 18%. При этом активность дегидрогеназы восстановленного НАД значительно превосходит таковую контрольных животных (рис. 17, 18).

Активации глутаматом НАДН: цитохром С - оксидоредуктазы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек при гипоксии, наряду с вышеуказанными факторами, обусловлена также способностью этой аминокислоты стимулировать глюконеогенез (A.F. D'Adamo и соавт., 1955; R. Marcus, G. Reaven , 1967).

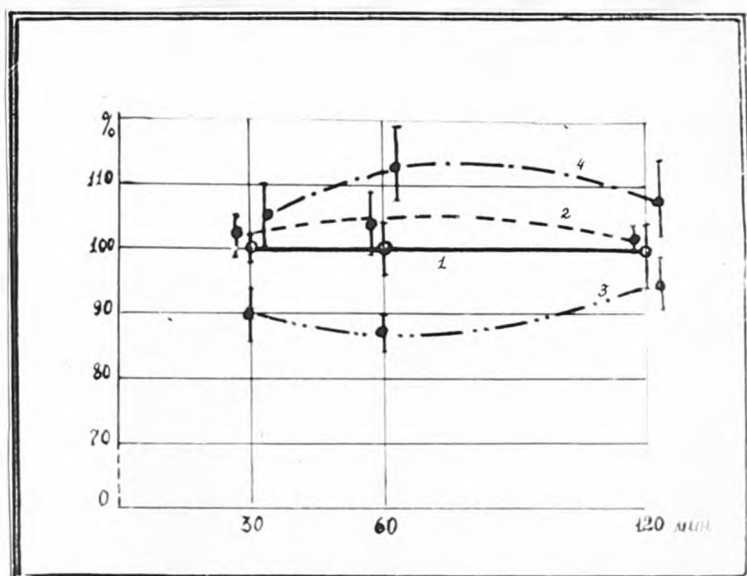


Рис. 16

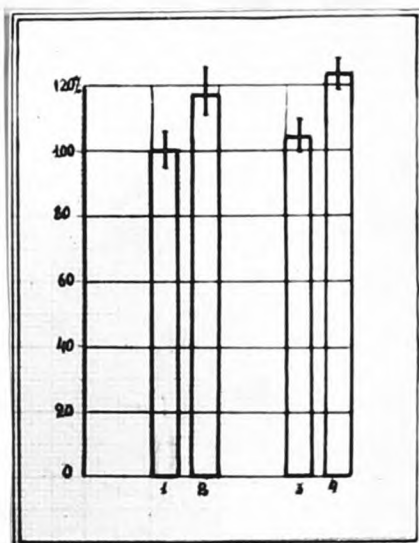


Рис. 17

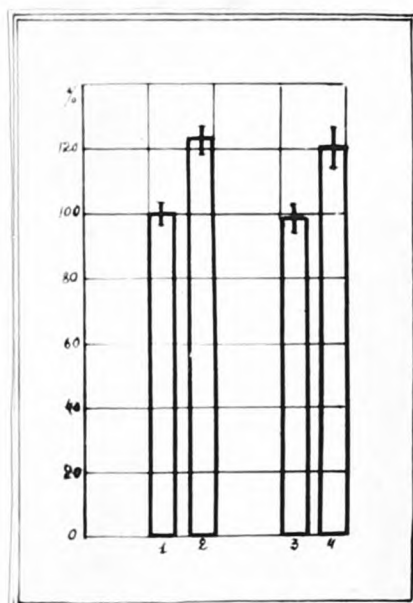


Рис. 18

Активность НАДН:цитохром С-оксидоредуктазы в митохондриях печени (рис. 16), сердца (рис. 17) и коркового слоя почек (рис. 18) при гипоксии и под влиянием глутаминовой кислоты (в % к первым группам). Обозначения: норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2); гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4).

Имеются данные литературы, которые свидетельствуют о том, что глутаминовая кислота участвует в превращении ряда аминокислот в глюкозу (А.Е.Браунштейн, 1949; Г.Кребс, Г.Корнберг, 1959). Активация новообразования глюкозы при введении в организм указанного препарата, очевидно, обусловлена стимулирующим действием ее на функцию гипофиз-адреналовой системы (R.Marcus, G.Reaven, 1967). Стимуляция глутаминовой кислотой стероидогенеза при гипоксии показана Н.А.Удинцевым (1966, 1968, 1969).

Кроме того, в литературе имеются сведения о том, что глутаминовая кислота препятствует гипоксическому снижению гликогена в печени, в скелетной и сердечной мышцах (Н.А.Удинцев, В.К.Мазурик, 1960; Ю.М.Гефтер и др., 1961, 1962; М.А.Добринская, 1962; А.В. Захарова, 1962; А.М.Генкин и др., 1966).

Таким образом, в результате стимуляции глутаматом глюконеогенеза при гипоксии происходит расходование восстановленных эквивалентов на синтез глюкозы, что способствует повышению активности НАДН-дегидрогеназы.

Проникновение НАДН в митохондрии и его окисление в них зависит от концентрации эндогенных субстратов (M.D.Greenspan, I.L.Purvis, 1968), источником которых может служить глутаминовая кислота. Окисление α -кетоглутарата, образующегося из продуктов обмена глутаминовой кислоты, сопровождается синтезом ГТФ и предотвращает низкоэнергетический сдвиг в митохондриях при гипоксии (Е.И. Маевский, 1971). В свою очередь ГТФ (Y.Hatefi и соавт., 1969) и улучшение энергетического обмена (С.Е.Северин, Л.А.Цейтлин, 1961) способствуют активации НАДН - дегидрогеназной активности в митохондриях.

5. АКТИВНОСТЬ ЦИТОХРОМОКСИДАЗЫ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ, СЕРДЦА И ПОЧЕК ПРИ ГИПОКСИИ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

В предыдущих разделах диссертации представлены результаты опытов по определению активности сукцинатдегидрогеназного комплекса, НАД-зависимых дегидрогеназ и дегидрогеназы восстановленного НАД. Для завершения комплекса исследований системы дыхательных ферментов представлялось целесообразным определить активность конечного звена ферментов тканевого дыхания — цитохромоксидазы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек при гипоксии и под влиянием глутаминовой кислоты.

Цитохромоксидаза, являясь преобладающей окислительной системой животного мира (Д.М.Михлин, 1960), принимает непосредственное участие в активации кислорода при реализации тканевого дыхания. Поэтому дефицит кислорода, являющегося субстратом этого фермента, должен оказывать непосредственное влияние на активность цитохромоксидазы митохондрий.

Выделение цитохромоксидазы и изучение ее структуры не дало однозначных результатов. Предполагают, что этот фермент состоит либо из двух различных цитохромов, либо из одного энзима, содержащего две простетические группы, удаленные друг от друга на расстояние, позволяющее автономно осуществлять каталитическую функцию обоим центрам (Y.P.Mayer, T.E.King, 1969). В более поздних работах (Seki Shuji, Oda Takuro, 1970) из митохондрий сердца была получена наименьшая субъединица цитохромоксидазы, обладающая ферментной активностью, молекулярный вес которой равен 270 000. В состав этой субъединицы входят 2 гема и 2 атома меди. Более подробно со структурной организацией цитохромоксидазы можно познакомиться в монографиях и обзорах последних лет (Д.М.Михлин, 1960; В.П.

Скулачев, 1962, 1969, 1971; D.O.Hall, I.M.Palmer, 1969; M.R.Lemberg, 1969).

Определяя активность цитохромоксидазы, мы фактически изучали состояние комплекса ферментов, переносящих электроны с восстановленного цитохрома С на кислород.

В таблице 15 представлены результаты опытов по определению активности цитохромоксидазы в митохондриях печени при гипоксии и под влиянием глутамата натрия. По мере увеличения длительности гипоксии наблюдается все большее угнетение активности цитохромоксидазы. Если после 30 и 60-минутного пребывания животных в барокамере происходит ингибирование фермента на 19%, то через 2 часа гипоксии — на 27% (сравниваются группы 1 и 3).

Наши данные не совпадают с результатами З.К.Сулимо-Самуйло (1952) и И.П.Попова (1966), которые обнаружили увеличение активности цитохромоксидазы в гомогенатах печени животных, находившихся 1,5 часа в барокамере на "высоте" 8000 метров. Однако при более длительной и более выраженной гипоксии происходит снижение активности указанного фермента (И.П.Попов, 1965; В.И.Мамлюк, 1965; А.А.Покровский, 1969, 1971).

Таким образом, данные литературы и результаты наших опытов свидетельствуют о том, что глубина и разная продолжительность гипоксии неодинаково влияют на активность цитохромоксидазы. Увеличение продолжительности и глубины кислородного голодания сопровождается ингибированием активности цитохромоксидазы в митохондриях печени.

В таблице 16 приведены результаты, посвященные влиянию гипоксии (пребывание в барокамере в течение 60 минут на "высоте" 8000 метров) и глутаминовой кислоты на активность цитохромоксидазы в митохондриях сердца и коркового слоя почек. В отличие от митохон-

Активность цитохрома С-оксидазы в митохондриях печени
в разные сроки после введения физиологического раствора
и глутаминовой кислоты в норме и при гипоксии
(ΔE на 1 мг белка митохондрий в 1 мин)

№	Через 30 минут				Через 1 час				Через 2 часа			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	0,230	0,259	0,200	0,273	0,300	0,291	0,200	0,263	0,300	0,300	0,264	0,264
2	0,360	0,247	0,250	0,270	0,300	0,268	0,270	0,380	0,300	0,300	0,232	0,335
3	0,270	0,346	0,200	0,240	0,333	0,263	0,227	0,306	0,300	0,300	0,222	0,281
4	0,346	0,423	0,268	0,294	0,264	0,314	0,350	0,250	0,290	0,388	0,222	0,307
5	0,370	0,360	0,205	0,374	0,250	0,300	0,250	0,246	0,315	0,333	0,200	0,346
6	0,340	0,304	0,200	0,268	0,307	0,366	0,188	0,294	0,266	0,273	0,200	0,320
7	0,293	0,332	0,225	0,374	0,269	0,372	0,160	0,300	0,273	0,266	0,150	0,320
8	0,318	0,300	0,360	0,413	0,333	0,247	0,200	0,352	0,280	0,312	0,175	0,200
9	-	0,312	0,339	0,333	0,333	0,309	0,235	0,444	0,300	0,346	0,246	0,313
10	-	-	0,372	0,333	0,324	0,312	0,263	0,363	0,300	0,333	0,233	0,333
11	-	-	-	0,400	-	0,343	0,294	0,340	-	-	0,200	0,247
12	-	-	-	-	-	0,350	0,300	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	0,300	0,261	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	0,238	-	-	-	-	-
M±	0,318	0,320	0,261	0,323	0,301	0,310	0,245	0,321	0,292	0,315	0,213	0,269
m	0,017	0,018	0,022	0,017	0,010	0,009	0,013	0,018	0,004	0,011	0,009	0,013
%	100	101 ^x	82 ^x	123 ^{xx}	100	103 ^x	81 ^x	131 ^{xx}	100	108 ^x	73 ^x	138 ^{xx}
P			>0,05	<0,05			<0,05	<0,001		>0,5	<0,01	<0,001

Примечание: 1, 3 - вводился физиологический раствор;

2, 4 - вводился глутамат натрия;

%^x - сравниваются с группами 1;

%^{xx} - сравниваются группы 3 и 4.

Таблица 16

Активность цитохромоксидазы в митохондриях сердца и коркового слоя почек при гипоксии и под влиянием глутаминовой кислоты (ΔE на 1 мг белка митохондрий в 1 мин)

№ п/п	С е р д ц е				П о ч к и			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	0,300	0,323	0,250	0,461	0,242	0,233	0,293	0,333
2	0,266	0,363	0,333	0,433	0,300	0,361	0,235	0,289
3	0,272	0,363	0,363	0,453	0,188	0,281	0,248	0,288
4	0,250	0,230	0,318	0,409	0,194	—	0,184	0,250
5	0,300	0,300	0,246	0,300	0,166	0,300	0,217	0,230
6	0,215	0,215	0,250	0,363	0,176	0,323	0,181	0,190
7	0,333	0,416	0,221	0,235	0,330	0,350	0,210	0,222
8	0,300	0,320	0,346	0,417	0,235	0,285	0,178	0,257
9	0,363	0,363	0,308	0,354	0,300	0,300	0,220	0,250
M [±]	0,288	0,321	0,303	0,380	0,241	0,304	0,218	0,256
±m	±0,014	±0,021	±0,017	±0,025	±0,023	±0,015	±0,016	±0,013
%	100	111 ^X	105 ^X	125 ^{XX}	100	126 ^X	91 ^X	117 ^{XX}
P		>0,5	>0,5	<0,01		<0,05	>0,5	<0,05

Примечания: 1, 3 — вводился физиологический раствор;
 2, 4 — вводился глутамат натрия;
 %^X — сравниваются с группами 1;
 %^{XX} — сравниваются группы 3 и 4.

дрий печени в гранулах сердца и почек активность цитохромоксидазы не изменяется под влиянием острой гипоксии. Такое различие в активности фермента скорее всего обусловлено неодинаковой функцией указанных органов. Несмотря на интенсивную нагрузку, которую испытывают сердце и почки при гипоксии, активность цитохромоксидазы в них сохраняется. Очевидно, компенсаторные физиологические механизмы, несмотря на дефицит кислорода в организме, способны обеспечить эти органы необходимым количеством кислорода для того, чтобы поддерживать на высоком уровне аэробные энергодающие окислительные процессы.

Совпадающие с нашими данными результаты были получены рядом авторов (R. Ekhol и др., 1968) при перевязке коронарных артерий миокарда. Через 30 минут после перевязки кровеносных сосудов гистхимически не обнаруживается изменений в активности цитохромоксидазы в митохондриях сердца.

Интересные данные получены А.И.Струковым и К.С.Мишиным (1971) при исследовании ультраструктуры и активности ферментов митохондрий гипертрофированного сердца человека. Этими авторами показано, что в одной и той же клетке митохондрии имеют различную морфологическую структуру и неодинаковую ферментную активность. На основании этих данных авторы делают вывод о том, что при усилении нагрузки на сердце происходит мобилизация "резервных" митохондрий и вовлечение их в метаболические процессы.

Глутаминовая кислота в нормальных условиях опытов не влияет на активность цитохромоксидазы в митохондриях печени (табл. 15) и сердца (табл. 16), однако в митохондриях почек в этих же условиях опытов (табл. 16) наблюдается стимуляция активности фермента на 26% после введения в организм глутамата. Очевидно, эта стимуляция вызвана тем, что глутамат, введенный в организм, частично (около 10%) выводится почками (А.П.Никифоров, 1967), что создает

условия для активации цитохромоксидазы.

В условиях кислородной недостаточности глутаминовая кислота стимулирует активность цитохромоксидазы (группы 3 и 4) в митохондриях печени (табл. 15), сердца и коркового слоя почек (табл. 16). Так, после 30, 60 и 120-минутной гипоксии глутамат повышает цитохромоксидазную активность печени на 23,31 и 28% соответственно. После односторонней гипоксии под влиянием глутаминовой кислоты активность цитохромоксидазы увеличивается в митохондриях сердца на 25% и почек — на 17%.

На рисунках 19, 20 и 21 показана динамика изменений активности цитохромоксидазы под влиянием гипоксии и глутаминовой кислоты в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек. Все результаты сравниваются с показателями животных, находившихся в нормальных условиях и получавших физиологический раствор (первые группы, их данные приняты за 100%). Анализ этих результатов показывает, что под влиянием глутаминовой кислоты в митохондриях печени происходит устранение ингибирующего действия гипоксии и нормализация активности цитохромоксидазы, а в митохондриях сердца активность этого фермента под влиянием глутамата значительно превышает уровень контрольных животных.

Полученные нами данные о стимулирующем влиянии глутаминовой кислоты на активность глутаматдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы и цитохром С — оксидазы совпадают с результатами, полученными ранее Н.А.Удинцевым (1960, 1960а, 1961). Однако наши опыты не являются простым повторением экспериментов Н.А.Удинцева по следующим причинам. Во-первых, в своих исследованиях Н.А.Удинцев использовал для определения активности ферментов колориметрические методы исследования, которые по своей точности значительно уступают современным спектрофотометрическим методам; во-вторых, в отличие

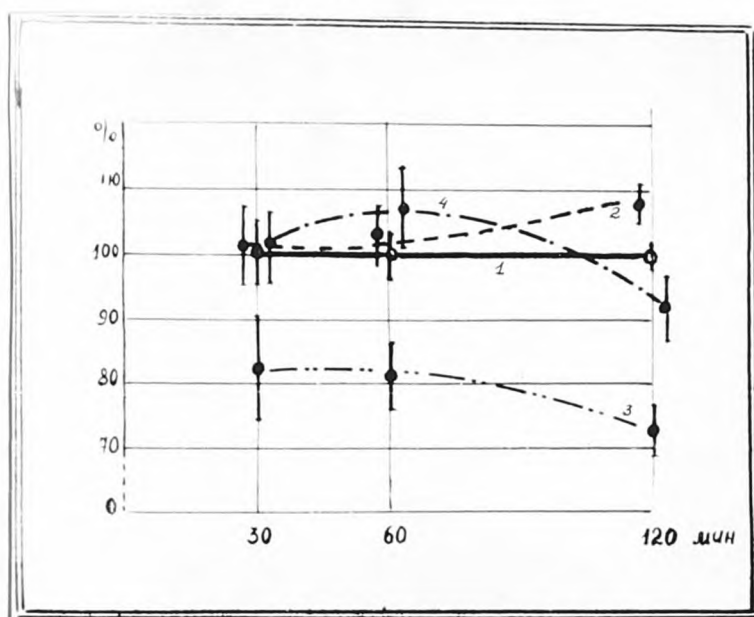


Рис. 19

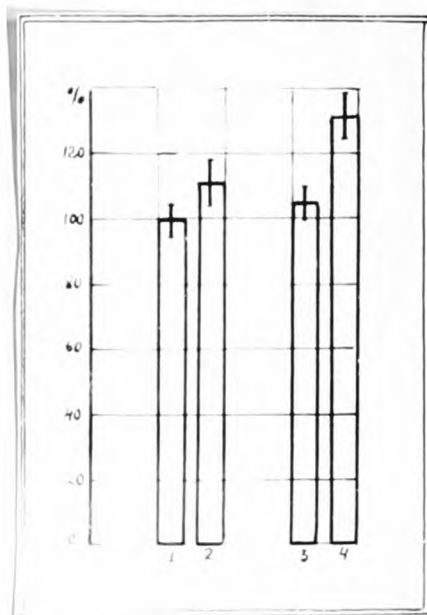


Рис. 20

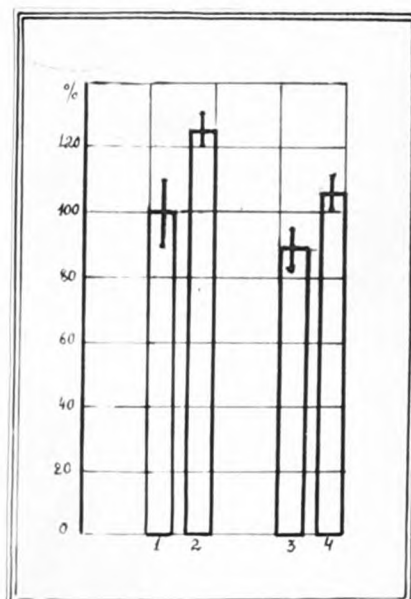


Рис. 21

Активность цитохромоксидазы в митохондриях печени (рис. 18), сердца (рис. 19) и почек (рис. 20) (в % к первым группам). Обозначения: норма, вводился физиологический раствор (1) и глутаминовая кислота (2); гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутаминовая кислота (4).

от ранее проведенных опытов, в наших экспериментах более полно исследовался комплекс ферментов дыхательной цепи; в-третьих, опыты Н.А.Удинцева проведены на гомогенатах, а наши — на изолированных митохондриях.

Таким образом, приведенные в данном разделе результаты свидетельствуют о том, что митохондрии печени в отличие от митохондрий сердца и почек по-разному реагируют на острую гипоксию. Если в митохондриях печени происходит снижение активности цитохром-оксидазы, то в сердце и почках она остается на уровне контрольных животных. Предварительные инъекции глутаминовой кислоты снимают ингибирующее действие гипоксии на цитохромоксидазу в митохондриях печени и стимулируют активность этого фермента в гранулах сердца и коркового слоя почек при кислородном голодании.

Важным связующим звеном в обмене аминокислот и углеводов являются ферменты аминотрансферазы. Ведущее место среди этих ферментов занимает глутамат:щавелевоуксусная-аминотрансфераза, которая может существенно влиять на концентрацию эндогенной щавелевоуксусной кислоты и на функциональное состояние митохондрий. Поэтому в следующей серии опытов мы исследовали влияние гипоксии и глутаминовой кислоты на активность глутамат:щавелевоуксусной аминотрансферазы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек.

6. АКТИВНОСТЬ ГЛУТАМАТ:ЩАВЕЛЕВОУКСУСНОЙ-АМИНОТРАНСФЕРАЗЫ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ, СЕРДЦА И ПОЧЕК ПРИ ГИПОКСИИ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

Наше внимание к исследованию активности глутамат:щавелевоуксусной аминотрансферазы (КФ 2.6.1.1) было привлечено тем, что этот фермент принимает участие в обмене таких кислот, как глутаминовая и ЩУК, а следовательно, и в метаболизме янтарной кислоты. На значение этих трех кислот в регуляции метаболического состоя-

ния митохондрий указывалось выше. Кроме того, существует тесная функциональная взаимосвязь между глутаматдегидрогеназой, малатдегидрогеназой и глутамат:щавелевоуксусной-аминотрансферазой, которые играют важную роль в регуляции реакций цикла Кребса и концентрации эндогенных субстратов в митохондриях (А.Ленинджер, 1966; А.Е.Браунштейн, 1967; М.Н.Кондрашова, 1971; А.Д.Виноградов, 1969, 1970), а также участвуют в интеграции обмена белков, углеводов и жиров.

Поскольку в условиях гипоксии происходит перестройка в метаболизме жиров, углеводов и белков и глутаминовая кислота принимает непосредственное участие в этих процессах, предполагалось, что изучение изменений в активности глутамат:щавелевоуксусной-аминотрансферазы под влиянием дефицита кислорода и введенного в организм глутамата натрия позволит иметь более полное представление об изменениях обмена в митохондриях при указанных воздействиях на организм.

Глутамат:ЩУК-аминотрансфераза митохондрий, по данным разных авторов, имеет молекулярный вес от 70000 до 140000 (А.Е.Браунштейн, 1949; Churchich, 1967; В.Скарди, 1968; N. Fallis, M. Martinier-Carrion, 1970). Этот фермент распределен в клетках диффузно. Гистохимические исследования показали, что в митохондриях глутамат:щавелевоуксусная-аминотрансфераза локализована в кристах и наружных оболочках этих субклеточных структур (Lee Sin Hang, 1965, 1969; F. Fonnus, 1968) и не имеет, по-видимому, прочной связи с мембранами митохондрий (Г.А.Зелезинская, 1967; A. Rendon, A. Waksman, 1969). Фермент состоит из двух субъединиц (Ю.М.Торгинский, 1964; О.Л.Поляновский и др., 1965, 1966, 1966а), при диссоциации на которые активность глутамат:щавелевоуксусной-аминотрансферазы увеличивается (О.Л.Поляновский, 1968).

Если же при этом отщепляется витамин B_6 , то активность ее утрачивается (Ю.М.Торгинский, 1964).

Большое значение в образовании структуры и каталитической деятельности аспартат-аминотрансферазы играют тиоловые группы. На одну молекулу фермента приходится 12 таких групп, по 6 на каждую субъединицу. Две из них выполняют каталитическую функцию, 4 оставшиеся — поддерживают конформационную структуру энзима (Ю.М.Торгинский, А.Е.Браунштейн, 1963; Ю.М.Торгинский, О.Л.Поляновский, 1964; О.Л.Поляновский и др., 1965).

Активный центр аспартат-аминотрансферазы состоит из тетрапептидного фрагмента, содержащего пиридоксил-лиз-сер-асп- H_2 -фенилаланина (О.Л.Поляновский, Н.Е.Воротницкая, 1966).

В таблице 17 представлены результаты опытов по определению активности глутамат:щавелевоуксусной-аминотрансферазы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек после 60-минутной гипоксии и при введении глутамата натрия. Анализ этих результатов показывает, что изменение в активности фермента после пребывания животных в условиях острой гипоксии в митохондриях разных органов имеет одинаковую направленность (сравниваются группы I и 3). Происходит увеличение активности глутамат:щавелевоуксусной-аминотрансферазы в митохондриях печени, сердца и почек, особенно сильно в митохондриях печени (на 226%) и менее выражено — в гранулах сердца (120%) и почек (121%). Стимуляция аминотрансферазной активности при гипоксии обнаружена и другими авторами (П.М.Бабарин и соавт., 1964; И.В.Шестаковская, Е.А.Гайда, 1969).

Инъекции глутамата натрия перед помещением крыс в барокамеру (табл. 17, группы 3 и 4) еще больше стимулируют активность глутамат:щавелевоуксусной-аминотрансферазы в митохондриях печени (118%) и почек (121%) и не оказывают существенного влияния на ее актив-

Активность глутамат:азеловоуасусной аминотрансферазы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек после острой гипоксии ("высота" 8000 метров, 60 минут) и введения глутамата натрия (в мкл на 1 мг белка митохондрий в час)

№	Печень				Сердце				Почки			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	1,40	1,70	3,40	3,80	2,66	3,00	3,40	3,20	1,06	1,33	2,13	2,55
2	1,10	1,00	3,20	3,90	2,84	3,10	3,33	2,98	1,40	1,30	2,10	2,20
3	1,40	1,20	3,80	5,00	2,77	2,77	3,10	3,00	1,29	1,85	1,75	2,20
4	1,30	1,40	2,90	3,40	2,44	3,47	3,81	4,69	2,03	1,70	1,72	2,40
5	1,50	2,00	3,60	3,70	2,50	3,19	2,76	3,33	1,53	2,12	1,63	1,90
6	2,50	2,00	4,30	4,30	2,35	2,00	2,45	2,77	1,79	1,92	-	-
7	1,5	2,60	2,60	3,70	2,83	3,22	-	-	1,75	-	-	-
8	-	-	3,80	4,30	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	3,20	4,00	-	-	-	-	-	-	-	-
10 [±]	1,50 [±]	1,70 [±]	3,40 [±]	4,00 [±]	2,62 [±]	3,10 [±]	3,14 [±]	3,33 [±]	1,55 [±]	1,70 [±]	1,86 [±]	2,26 [±]
%	0,11	0,10	0,02	0,11	0,07	0,11	0,09	0,28	0,04	0,04	0,03	0,03
%	100	113 ^X	226 ^X	118 ^{XX}	100	118 ^X	120 ^X	106 ^{XX}	100	109	120	121
P		>0,05	<0,001	<0,05		<0,01	<0,01	>0,5		>0,5	<0,01	<0,01

Примечания: норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2);

гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4);

%[±] - сравниваются с группами 1;

%^{XX} - сравниваются группы 3 и 4.

ность в сердечной мышце.

Такая разница в изменении активности фермента под влиянием глутамата при острой гипоксии обусловлена не только функциональной неоднородностью органов, но и исходной активностью этой аминотрансферазы в митохондриях интактных животных. Данные литературы (P.Borst, E.C.Slater, 1959, 1960; L.A.Fahien и др., 1969) и наши (табл. I7, группы I) свидетельствуют о том, что в митохондриях сердца глутамат:щавелевоуксусная-аминотрансфераза более активна, чем в печени и почках. По всей вероятности, резерв профермента в сердечной мышце, в связи с высокой исходной активностью глутамат-аминотрансферазы, в митохондриях сердца меньший, чем в печени и почках. Поэтому, вероятно, при гипоксии в сердечной мышце он мобилизуется почти полностью, и глутаминовая кислота не оказывает существенного влияния на его активность.

В литературе существует мнение, что основным регулятором активности глутамат:щавелевоуксусной-аминотрансферазы является глутаминовая кислота (L.A.Fahien, M.Stremsky, 1969). Известно также, что при введении глутамата, концентрация его в тканях организма повышается и остается на таком уровне в течение нескольких часов (А.М.Генкин и др., 1968; I.Tanaka и др., 1968). Увеличение количества глутамата в тканях может вызвать индуктивную стимуляцию активности глутамат:щавелевоуксусной-аминотрансферазы.

В регуляции активности аминотрансфераз большое место отводится кортикостероидным гормонам, которые оказывают стимулирующее влияние на глутамат-аминотрансферазную активность (Л.И.Поликарпова, 1969, 1969а; К.А.Полетаева, 1969) за счет индукции синтеза этого фермента (М.Г.Рутман, 1968). Работами Н.А.Удинцева (1966, 1967, 1968) показано стимулирующее влияние глутаминовой кислоты на стероидогенез в условиях гипоксии. Поэтому один из механизмов стимуляции глутаматом активности глутамат:щавелевоуксусной-амино-

трансферазы имеет связь с его способностью повышать функциональное состояние надпочечников.

Кортикостероидные гормоны выполняют адаптивную функцию в организме (Г.Селье, 1960; Т.Н.Протасова, 1969). Поэтому изменения в активности глутамат:щавелевоуксусной-аминотрансферазы, наблюдаемые в наших опытах под влиянием острой гипоксии и глутамата, можно расценивать как адаптивные к дефициту кислорода в организме.

Таким образом, острая гипоксия оказывает стимулирующее влияние на активность глутамат:щавелевоуксусной-аминотрансферазы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек. Глутамат в этих условиях опытов, подобно гипоксии повышая активность щавелевоуксусной-аминотрансферазы, усиливает ответную реакцию митохондрий печени и почек на острую гипоксию.

7. АКТИВНОСТЬ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТАЗЫ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ, СЕРДЦА И ПОЧЕК ПРИ ГИПОКСИИ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

В настоящее время из митохондрий выделено несколько видов аденозинтрифосфатаз (АТФ-аз), которые отличаются друг от друга по структуре и функции. В митохондриях различают Mg и динитрофенол (ДНФ) активируемые АТФ-азы. Кроме того, в них содержатся и другие ферменты, участвующие в транспорте различных ионов. Например, имеются K^+ и Na^+ активируемые АТФ-азы (I.A. Bassagen, I.M. Bonting, 1968; U.Schmidt, U.C. Duback, 1969), которые участвуют в обмене этих катионов. Особенно активны эти аденозинтрифосфатазы в дистальных отделах канальцев почек, где идет интенсивная реадсорбция указанных ионов в кровь. Недавно (Suzuki Junnosuke, 1969) из митохондрий почек выделена АТФ-аза, обладающая широкой специфичностью, активность которой не зависит от наличия ионов Na^+ , K^+ , Mg^{+2} , Ca^{2+} .

ДНФ- стимулируемая АТФ-аза привлекает внимание исследователей в том отношении, что она принимает непосредственное участие в синтезе АТФ в реакциях окислительного фосфорилирования (D.K. Mayers , E.C.Slater , 1957, 1957a; C.Уодкинс, 1961).

Известно, что динитрофенол является разобщителем дыхания с фосфорилированием и стимулятором свободного дыхания (C.Cooper A.Lehninger , 1957; В.П.Скулачев, 1962). Однако в концентрациях выше 50 мМ ДНФ ингибирует АТФ-азную активность (R.Kraayenhof, K.van Dam , 1969). Интерес к изучению механизма разобщающего действия ДНФ обусловлен тем, что он активирует фермент, гидролизующий АТФ, которая синтезируется в реакциях окислительного фосфорилирования. На изучение механизма гидролиза АТФ под действием ДНФ-активируемой АТФ-азы возлагаются надежды расшифровки некоторых этапов окислительного фосфорилирования. Многочисленными работами (C.Cooper, A.L.Lehninger, 1956, 1956a, 1957; B.Chance, G.Williams 1956; B.Chance , 1957; D.Mayers, E.Slater , 1957, 1957a; C.Cooper , 1960) показано, что активация динитрофенолом аденозинтрифосфатазной активности не зависит от присутствия в среде неорганического фосфата. Это дало повод высказать предположение о том, что ДНФ-активируемая АТФ-аза участвует в реакциях окислительного фосфорилирования до того, как макроэргический интермедиант $X\sim$ вступает во взаимодействие с фосфорной кислотой.

Двухвалентные ионы магния находятся в связанном состоянии с макромолекулярным комплексом АТФ-азы внутренней мембраны митохондрий, участвующей в трансформации энергии при окислительном фосфорилировании (N.M.Lee и соавт., 1970). Низкие концентрации Mg^{2+} (5-10 мМ) активируют, а высокие (более 30 мМ) - угнетают активность АТФ-азы (Ю.В.Евтодиев, В.Н.Шипакин, 1971).

Изучение свойств выделенной из митохондрий сердца (D.O.Lambeth и соавт., 1971) и печени (D.O.Lambeth, H.A.Lardy , 1971)

аденозинтрифосфатазы показало, что этот фермент имеет молекулярный вес равный 360 000 и состоит из нескольких субъединиц (A.E.Senior, J.C.Brooks, 1970). Электрофоретический анализ выявил наличие двух белковых компонентов в молекуле АТФ-азы (A.Tzagalow и соавт., 1968).

Из всех АТФ-аз наше внимание привлекли Mg^{2+} и ДНФ-стимулируемые аденозинтрифосфатазы, поскольку, изучая их активность, можно получить сведения об изменении в характере окислительного фосфорилирования под влиянием гипоксии и глутамата натрия.

В таблице 18 представлены результаты по определению активности АТФ-азы в митохондриях печени крыс, находившихся в течение 60 минут в барокамере с разрежением воздуха, соответствующим высоте 8000 метров. Под влиянием гипоксии происходит угнетение АТФ-азной активности. Так, Mg^{2+} активируемая аденозинтрифосфатаза снижает свою активность на 20%, а ДНФ-стимулируемая — на 18% по сравнению с группой животных, находившихся в нормальных условиях опытов (группы I, 2).

Аналогичные сдвиги в активности указанных ферментов при гипоксии наблюдаются в митохондриях сердца (табл. 19) и коркового слоя почек (табл. 20). При этом следует отметить, что наиболее глубокое гипоксическое ингибирование активности АТФ-азы выявляется в митохондриях сердца. Под влиянием острой гипоксии как ДНФ, так и Mg^{2+} активируемые АТФ-азы угнетаются на 38%. В то же время в митохондриях коркового слоя почек, так же как и в печени, снижение активности ферментов менее выражено. Так, в почках ингибирование активности Mg^{2+} активируемой АТФ-азы происходит на 18%, а ДНФ — зависимой — на 27%.

Одинаковые сдвиги в активности аденозинтрифосфатаз наблюдаются в митохондриях печени, сердца и почек при введении в организм глутаминовой кислоты в условиях острой гипоксии (табл. 18, 19, 20).

Таблица 18

Активность АТФ-азы в митохондриях печени после гипоксии ("высота" 8000 метров, 60 минут) и введения глутамата натрия (в мкА фосфора на 1 мг белка митохондрий в час)

	с Mg^{2+}			с Mg^{2+} и ДНФ		
	Гипоксия		3	Гипоксия		3
	1	2		1	2	
I	3,92	3,00	4,09	7,26	4,68	6,92
2	3,28	3,13	3,42	5,82	5,35	7,22
3	3,25	3,04	3,12	5,80	4,50	7,28
4	4,86	2,95	3,26	7,23	5,68	6,66
5	5,41	4,58	4,55	7,91	4,54	6,85
6	4,20	3,91	3,57	4,95	6,00	6,56
7	3,20	2,55	4,37	6,73	6,30	7,00
8	5,00	3,47	4,58	5,65	3,93	8,70
9	4,84	2,70	6,37	7,50	4,10	8,40
10	5,00	4,42	4,05	—	5,83	8,10
11	—	4,56	6,30	—	7,87	—
12	—	—	—	—	6,54	—
$M \pm$	$4,30 \pm$	$3,48 \pm$	$4,33 \pm$	$6,57 \pm$	$5,45 \pm$	$7,36 \pm$
$\pm m$	0,34	0,22	0,33	0,33	0,28	0,18
%	100	80 ^X	124 ^{XX}	100	82 ^X	135 ^{XX}
P		<0,05	<0,05		<0,01	<0,001

Примечания: 1, 2 — вводился физиологический раствор;

3 — вводился глутамат натрия;

%^X — сравниваются с группами 1;

%^{XX} — сравниваются группы 2 и 3;

Таблица 19

Активность АТФ-азы в митохондриях сердца после гипоксии
("высота" 8000 м, 60 мин) и введения глутамата натрия
(в мкА фосфора на 1 мг белка митохондрий в час)

№ №	С Мg 2+			С Мg 2+ + ДНФ		
	Норма	Гипоксия		Норма	Гипоксия	
	I	2	3	I	2	3
1	13,00	7,20	11,25	13,00	11,25	15,90
2	15,90	7,50	9,00	15,00	8,00	13,00
3	16,42	7,27	10,65	21,60	8,76	13,00
4	14,90	6,32	10,95	18,33	17,35	15,40
5	11,06	7,34	14,47	20,90	9,69	18,15
6	10,00	11,13	14,66	11,44	12,04	15,50
7	11,30	8,33	13,20	13,09	10,20	15,00
8	12,50	9,73	10,28	14,31	10,78	13,00
9	13,40	8,75	10,80	16,25	9,75	16,80
10	-	7,06	11,87	17,00	8,40	14,50
11	-	8,55	14,50	-	10,95	16,32
12	-	9,12	-	-	12,50	-
M±	13,16±	8,19±	11,36±	16,09±	9,97±	15,14±
±m	0,65	0,38	0,58	0,96	0,75	0,50
%	100	62 ^x	132 ^{xx}	100	62 ^x	151 ^{xx}
P		<0,001	<0,001		<0,001	<0,001

Примечания: 1, 2 - вводился физиологический раствор;
3 - вводился глутамат натрия;
%^x - сравниваются с группами 1;
%^{xx} - сравниваются группы 2 и 3.

Таблица 20

Активность АТФ-азы в митохондриях коркового слоя почек после гипоксии ("высота" 8000 м, 60 мин) и введения глутамата натрия (в мкА фосфора на 1 мг белка в час)

№ №	С Mg ²⁺			С Mg ²⁺ + ДНФ		
	Норма	Гипоксия		Норма	Гипоксия	
	I	2	3	I	2	3
I	9,30	7,17	7,36	13,47	8,73	8,42
2	7,25	7,69	6,81	13,25	6,30	10,90
3	7,90	5,71	8,34	8,60	8,37	11,64
4	7,73	6,75	12,00	10,03	7,73	12,60
5	7,62	6,69	8,50	9,25	8,40	11,00
6	6,00	6,66	5,76	10,15	5,47	7,20
7	6,56	4,94	5,90	8,64	9,00	8,10
8	5,35	5,28	6,60	9,76	7,30	8,73
9	7,61	5,07	8,06	10,35	5,25	11,60
10	-	4,17	-	-	8,40	10,53
11	-	5,16	-	-	-	-
M [±]	7,25 [±]	5,93 [±]	7,77 [±]	10,39 [±]	7,59 [±]	10,07 [±]
±m	0,40	0,33	0,64	0,59	0,45	0,56
%	100	82 ^x	131 ^{xx}	100	73 ^x	132 ^{xx}
P		<0,01	<0,02		<0,01	<0,01

П р и м е ч а н и я : I, 2 - вводился физиологический раствор;

3 - вводился глутамат натрия;

%^x - сравниваются с группами I;

%^{xx} - сравниваются группы 2 и 3.

Происходит стимуляция аденозинтрифосфатазной активности в митохондриях всех трех органов (группы 2 и 3): Mg^{2+} активируемая АТФ-аза стимулируется в печени на 24% (табл. 18), в сердце — на 32% (табл. 19) и почках — на 31% (табл. 20), а ДНФ-зависимая — на 35, 51 и 32% соответственно.

Если сравнивать показатели активности АТФ-аз животных, находившихся в нормальных условиях и получавших физиологический раствор, с таковыми у крыс, находившихся в условиях гипоксии, которым вводилась глутаминовая кислота (рис. 22, группы I и 3), то отчетливо видно, что под действием глутаминовой кислоты происходит нормализация активности Mg^{2+} и ДНФ-активируемых АТФ-аз в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек.

По изменению активности ДНФ-зависимой АТФ-азы можно судить о степени сопряженности дыхания с фосфорилированием. Ряд авторов показал, что максимальная стимуляция дыхания динитрофенолом в низких концентрациях ($3 \cdot 10^{-5} M$) наблюдается в прочно сопряженных митохондриях (Л.В.Николаева, М.Н.Кондрашова, 1966; Е.М.Хватова и соавт., 1971). Существует корреляция между дыхательным контролем и активностью ДНФ-зависимой АТФ-азы. Снижение дыхательного контроля сопровождается уменьшением активности ДНФ-стимулируемой АТФ-азы (В.Д.Нельсон и соавт., 1967; Z. Prasad, 1970; А.И.Толейкис, А.К.Прешкявичус, 1971; Е.М.Хватова и соавт., 1971). Высказывается также мнение о том, что при повреждении окислительного фосфорилирования происходит снижение ДНФ-активируемой АТФ-азы (В.Д.Нельсон и соавт., 1967; Е.М.Хватова и соавт., 1971). Поэтому мы полагаем, что под действием острой гипоксии происходит повреждение окислительного фосфорилирования, сопровождающееся снижением АТФ-азной активности, наблюдаемой в наших опытах. Об этом же свидетельствуют данные литературы, которыми показано ингибиро-

вание активности АТФ-азы зависимой от динитрофенола при тяжелых формах гипоксии (А.Ф.Макарова, 1958; Н.Р.Чаговец, 1959, 1971; Л.Л.Хачатрян, Н.А.Абатурова, 1965; В.Д.Nelson и соавт., 1967; А.И.Толейкис, А.К.Прашкявичус, 1971), снижение коэффициента фосфорилирования (Р.И.Ленкова, 1968) и увеличение скорости дыхания в четвертом метаболическом состоянии, наблюдаемое в наших опытах (табл.6

Активность АТФ-азы зависит от соотношения АТФ:АДФ, уменьшение этого соотношения сопровождается ингибированием АТФ-азы (Ozawa Takayuki, 1969; G.Zimmer и соавт., 1969). Известно, что гипоксия вызывает резкое снижение концентрации АТФ с соответствующим увеличением содержания АДФ, поэтому подобные сдвиги в концентрации адениннуклеотидов должны сопровождаться угнетением АТФ-азной активности. Снижение АТФ-азной активности в митохондриях печени, вероятно, обусловлено и тем, что при острой гипоксии происходит накопление янтарной кислоты в печени (В.И.Маевский, 1970, см. также наши данные, табл. 34), которая является ингибитором активности аденозинтрифосфатазы (R.D.Veldsema, E.C.Slater, 1968).

Активирующее действие глутаминовой кислоты на активность Mg^{2+} и ДНФ-зависимых аденозинтрифосфатаз при гипоксии обусловлено тем, что эта аминокислота улучшает энергетический обмен в митохондриях, способствует поддержанию АТФ на более высоком уровне (Ю.М.Гефтер и др., 1962, 1966; А.В.Захарова, 1962), устраняет низкоэнергетический сдвиг в митохондриях, стимулирует дыхание в третьем метаболическом состоянии и скорость фосфорилирования АДФ в АТФ (см. наши данные, табл. 7).

Таким образом, острая гипоксия оказывает повреждающее влияние на фосфорилирующий аппарат митохондрий печени, сердца и коркового слоя почек. Нарушение сопряженности дыхания с фосфорилированием приводит к снижению отношения АТФ:АДФ и ингибированию АТФ-азной

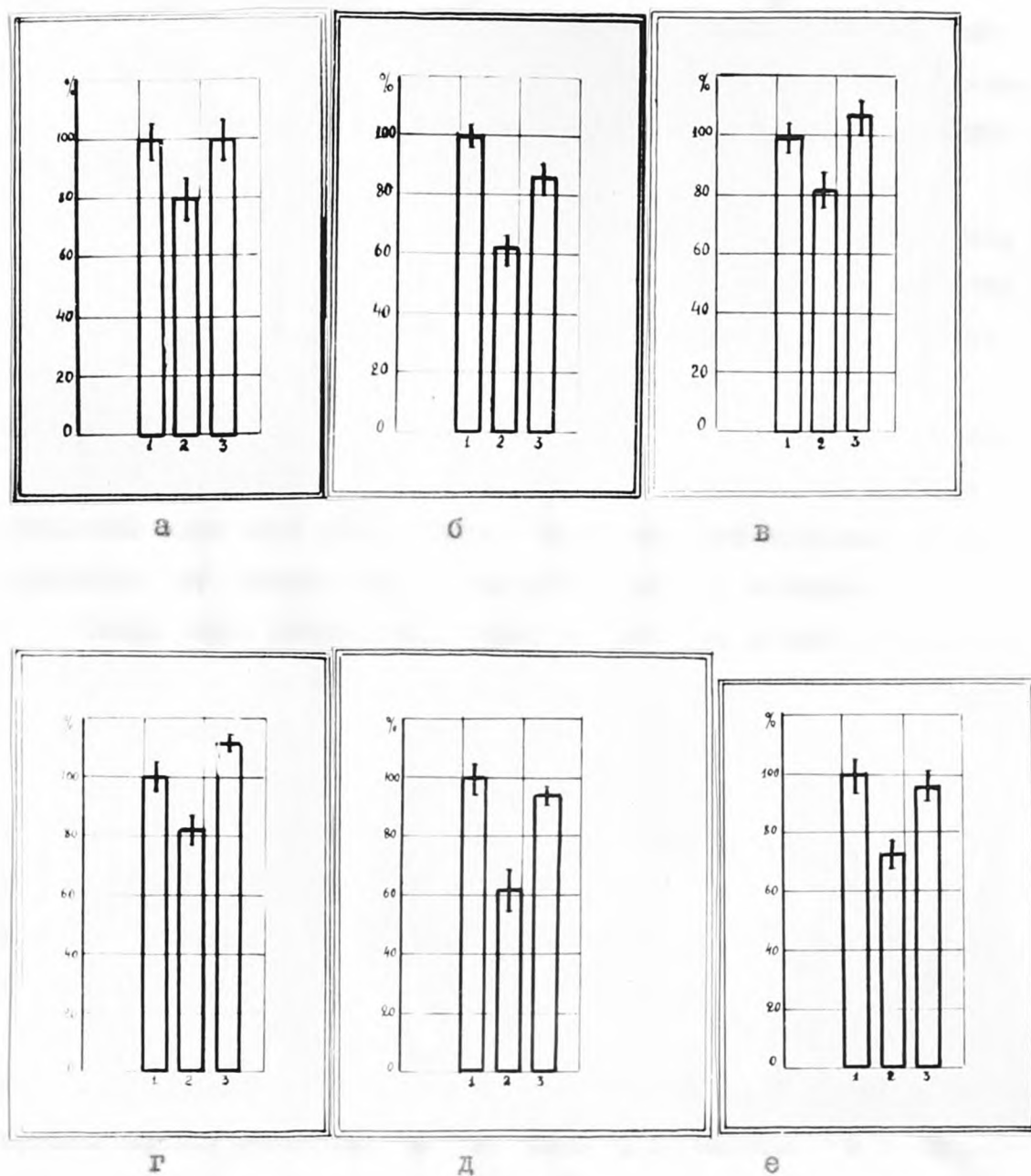


Рис. 22. Активность Mg^{2+} (а, б, в) и ДНФ-(г, д, е) активируемых АТФ-аз в митохондриях печени (а, г), сердца (б, д) и почек (в, е) после острой гипоксии (2) и введения глутамата (3) (в % к контролю (1)). Обозначения: 1, 2 - вводился физиологический раствор.

активности в митохондриях. Глутаминовая кислота, уменьшая низко-энергетический сдвиг в митохондриях и улучшая энергетический обмен в них, предотвращает повреждающее действие гипоксии на окислительное фосфорилирование и нормализует активность Mg^{2+} и ДНФ-активируемых аденозинтрифосфатаз.

Суммируя данные, приведенные в этой главе, следует отметить, что под влиянием острой гипоксии изменения в активности ферментов в митохондриях разных органов имеют неодинаковую направленность. Наиболее резистентными к острой гипоксии являются митохондрии сердца (табл. 8, 10, 12, 14, 16, 17, 19, рис. 8, 11, 14, 17, 20, 22). В этом органе у животных, перенесших гипоксию, изменения в активности ферментов тканевого дыхания имеют незначительные колебания и не отличаются от аналогичных показателей интактных животных.

Сохранность активности ферментов тканевого дыхания в сердечной мышце имеет важное значение для энергообеспечения интенсивной работы миокарда при дефиците кислорода в организме.

В митохондриях коркового слоя почек выявлено постгипоксическое снижение активности глутамат- и малатдегидрогеназ, намечается тенденция к снижению активности цитохромоксидазы и отсутствуют изменения со стороны сукцинатдегидрогеназы и НАДН:цитохром С-оксидазы (табл. 8, 10, 12, 14, 16, 17, рис. 9, 12, 15, 18, 21, 22).

Подобные, но более выраженные изменения в активности дыхательных ферментов при гипоксии выявлены в митохондриях печени, где прослеживается интересная закономерность, выражающаяся в конкуренции за дыхательную цепь между сукцинатом и НАД-зависимыми дегидрогеназами: активность СДГ повышается, однако активность ГДГ, МДГ и НАДН:цитохром С-оксидоредуктазы ингибируется. Переключение окислительных процессов с НАД-зависимых дегидрогеназ на сукцинат в постгипоксических митохондриях носит компенсаторный характер. При этом

окисление янтарной кислоты способствует быстрой ликвидации энергетического дефицита в митохондриях. Об этом же свидетельствует увеличение скорости дыхания в третьем метаболическом состоянии и скорости фосфорилирования АДФ в АТФ при использовании в качестве субстрата окисления янтарной кислоты.

Из всех исследованных нами ферментов в постгипоксических митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек однозначные сдвиги выявлены в активности АТФ-аз и глутамат:щавелевоуксусной аминотрансферазы. При этом активность АТФ-аз ингибируется, а аминотрансферазы активируется. Угнетение активности Mg^{2+} и ДНФ-зависимых аденозинтрифосфатаз можно расценивать как результат постгипоксического изменения в морфологической структуре митохондрий, влекущий за собой некоторое разобщение дыхания с фосфорилированием и увеличение скорости дыхания митохондрий печени после фосфорилирования добавленного АДФ (V_4).

Глутамат натрия в условиях гипоксии вызывает значительные изменения в функциональном состоянии митохондрий печени, сердца и коркового слоя почек. Эти сдвиги имеют одинаковую направленность и выявляются в виде стимуляции активности СДГ и активации глутамат:щавелевоуксусной-аминотрансферазы в митохондриях указанных органов. В данном случае мы наблюдаем прогипоксическое действие глутамата: гипоксическая стимуляция СДГ и глутамат:щавелевоуксусной-аминотрансферазы еще больше усиливается глутаматом.

В тех случаях, когда выявляется гипоксическое ингибирование активности ферментов, предварительные инъекции глутамата препятствуют гипоксическому угнетению активности НАД-зависимых дегидрогеназ, цитохром С-оксидазы и Mg^{2+} и ДНФ-зависимых АТФ-аз. Например, гипоксия ингибирует активность глутамат- и малат-дегидрогеназ и обеих АТФ-аз в митохондриях почек и печени, а глутаминовая кислота нор-

мализует их активность. При отсутствии гипоксического снижения ферментной активности (это в основном касается митохондрий сердца) глутамат также стимулирует активность ферментов, и она значительно превышает таковую у контрольных животных.

В оценке выявленных нами изменений в функциональном состоянии митохондрий имеются трудности в дифференцировке полезных адаптационных сдвигов от повреждающего действия гипоксии на митохондрии, но, учитывая данные литературы и результаты наших опытов, можно предполагать, что постгипоксическая стимуляция активности СДГ имеет приспособительный механизм, направленный на быструю ликвидацию энергетического дефицита в тканях организма по окончании воздействия гипоксии.

Иную оценку следует дать постгипоксическому ингибированию активности ряда НАД-зависимых дегидрогенах в митохондриях печени и коркового слоя почек. Энергетический дефицит, который имеет место при гипоксии, является причиной увеличения проницаемости митохондриальных мембран, набухания митохондрий и уменьшения концентрации эндогенных пиридиннуклеотидов. Такие изменения в митохондриях сопровождаются нарушениями в окислительном фосфорилировании и снижением активности всех НАД-зависимых дегидрогеназ в митохондриях печени, а также дегидрогеназ глутаминовой и яблочной кислот в почках.

Стимулирующее влияние глутамата на активность СДГ и снятие им гипоксического ингибирования активности НАД-зависимых дегидрогеназ и цитохром С-оксидазы можно оценить как адаптагенное действие этой аминокислоты к дефициту кислорода в организме. Указанное положение базируется на данных литературы, свидетельствующих о том, что в условиях гипоксии глутаминовая кислота улучшает окислительные процессы в тканях (А.М.Генкин, Н.А.Удинцев, 1958; Ю.М.Геф-

тер и др., 1962, 1966; В.В.Скрябин и соавт., 1969), уменьшает низкоэнергетический сдвиг в митохондриях (Е.И.Маевский, 1970), а также на основании наших результатов, приведенных в этой главе и опубликованных ранее (А.М.Генкин, Н.А.Глотов, 1967). Подтверждением этой точки зрения являются результаты опытов, посвященных изучению влияния глутаминовой кислоты на функциональное состояние митохондрий печени, сердца и коркового слоя почек при адаптации белых крыс к гипоксии.

Глава IV

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ, СЕРДЦА И ПОЧЕК
ПРИ АДАПТАЦИИ БЕЛЫХ КРЫС К ГИПОКСИИ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

Изучению тканевых адаптационных механизмов к гипоксии посвящено значительное количество работ (J.C.Stricney, D.L.Van Liere, 1953; R.Clark и соавт., 1954; Крепе и соавт., 1956, 1956a; W.C.Ullrich и соавт., 1956; З.И.Барбашова, 1960; F.D.Ziegler, 1967; B.D.Nelson и соавт., 1967). Однако в большинстве этих исследований изучалась небольшая группа ферментов цикла Кребса и дыхательной цепи. Кроме того, обращает на себя внимание пестрота условий проведения опытов. Указанные факты в известной мере объясняют разнородность данных литературы по вопросам адаптации организма к кислородному голоданию.

Учитывая современные взгляды о лабильности метаболических состояний митохондрий (М.Н.Кондрашова, 1969-1971), в наших экспериментах определялась активность всего комплекса изучаемых ферментов в митохондриях, выделенных из печени, сердца и коркового слоя почек одного и того же животного. Такая методика постановки экспериментов позволяет получить более точные представления об особенностях изменений в тканевом дыхании разных органов и взаимоотношениях отдельных ферментов дыхательной цепи при хронической гипоксии.

В литературе отсутствуют сведения о влиянии глутаминовой кислоты на тканевые адаптационные механизмы к длительному кислородному голоданию. Имеются лишь данные о применении глутаминовой кислоты как лекарственного препарата при лечении больных пневмосклерозом, больных с пороками сердца и пневмонией, где о состоянии аэробных окислительных процессов судили косвенно по изменению концентрации недоокисленных продуктов обмена в крови (И.П.Замотаев,

1969, 1969a, 1970).

Исходя из изложенного, нам представлялось целесообразным изучить влияние хронической гипоксии и глутамата натрия на активность СДГ, ГДГ, МДГ, НАДН: цитохром С-оксидоредуктазы, цитохром С-оксидазы, Mg^{2+} и ДНФ-активируемых АТФ-аз в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек.

Степень адаптации животных к гипоксии контролировали по гематологическим показателям: по количеству гемоглобина, ретикулоцитов и эритроцитов. Максимальное содержание гемоглобина, эритроцитов и ретикулоцитов наблюдалось на 12-14 сутки акклиматизации к гипоксии.

1. АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТОКСИДАЗНОЙ СИСТЕМЫ

Результаты, представленные в таблице 21 свидетельствуют о том, что у адаптированных к гипоксии животных (сравниваются группы I и 3) выявлено увеличение активности сукцинатдегидрогеназы в митохондриях печени и сердца на 24 и 15% соответственно. Однако активность дегидрогеназы янтарной кислоты в митохондриях почек при акклиматизации к дефициту кислорода остается на уровне контрольных животных.

Приведенные результаты опытов на митохондриях печени хорошо согласуются с данными полярографического определения дыхания в указанных гранулах у адаптированных к гипоксии животных с использованием янтарной кислоты как субстрата дыхания.¹⁾ Найдено (табл.22) увеличение скорости дыхания в третьем метаболическом состоянии (V_3) на 31,0%, дыхательного контроля по Чансу (В. Chance, 1956) — на 32,9% и скорости фосфорилирования АДФ в АТФ на 38,7%.

Наши результаты совпадают с данными литературы, которыми показано увеличение активности сукцинатдегидрогеназы в печени, серд-

¹⁾Опыты проделаны совместно с А.П.Ястребовым и А.М.Маевским.

Активность сукцинатдегидрогеназы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек при хронической гипоксии и под влиянием глутамата натрия (ΔE на 1 мг белка митохондрий в 1 мин)

№	Печень				Сердце				Почки			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	0,235	0,190	0,321	0,276	0,305	0,235	0,166	0,291	0,158	0,211	0,175	0,200
2	0,228	0,214	0,205	0,520	0,277	0,205	0,208	0,250	0,210	0,155	0,150	0,214
3	0,291	0,210	0,187	0,363	0,150	0,366	0,307	0,215	0,175	0,131	0,238	0,183
4	0,250	0,210	0,250	0,271	0,175	0,266	0,230	0,250	0,225	0,160	0,190	0,170
5	0,195	0,380	0,194	0,250	0,250	0,294	0,187	0,230	0,128	0,277	0,181	0,225
6	0,233	0,280	0,276	0,266	0,275	0,294	0,205	0,270	0,128	0,246	0,160	0,250
7	0,206	0,153	0,323	0,350	0,200	0,281	0,187	0,230	0,220	0,125	0,263	0,285
8	0,158	0,166	0,276	0,433	0,171	0,313	0,307	0,307	0,220	0,111	0,175	0,285
9	0,176	0,166	0,285	0,356	0,162	0,200	0,192	0,250	0,249	0,236	0,175	0,225
10	0,250	0,289	0,371	0,400	0,214	0,178	0,291	0,250	0,210	0,236	0,150	0,226
11	0,225	0,210	0,200	—	0,250	0,214	0,250	0,375	0,158	—	0,225	—
12	0,204	0,150	0,326	—	0,138	0,300	0,200	0,275	0,150	—	0,150	—
13	0,285	0,138	0,323	—	0,233	0,294	0,200	—	0,205	—	0,200	—
14	0,214	0,325	0,316	—	0,140	0,264	0,230	—	0,222	—	0,142	—
15	0,250	0,300	—	—	0,160	0,225	0,307	—	0,166	—	0,143	—
16	0,160	0,214	—	—	0,200	0,250	0,250	—	0,214	—	0,214	—
17	0,200	0,190	—	—	0,175	0,429	0,291	—	0,175	—	0,225	—
18	—	0,227	—	—	0,240	0,384	—	—	0,200	—	0,250	—
19	—	0,227	—	—	0,208	0,370	—	—	0,237	—	—	—
20	—	—	—	—	0,208	0,400	—	—	—	—	—	—
$\bar{x} \pm$	0,221 $\pm$	0,208 $\pm$	0,275 $\pm$	0,348 $\pm$	0,205 $\pm$	0,283 $\pm$	0,236 $\pm$	0,266 $\pm$	0,203 $\pm$	0,189 $\pm$	0,194 $\pm$	0,226 $\pm$
$\pm m$	$\pm 0,003$	$\pm 0,015$	$\pm 0,013$	$\pm 0,027$	$\pm 0,010$	$\pm 0,015$	$\pm 0,008$	$\pm 0,010$	$\pm 0,009$	$\pm 0,016$	$\pm 0,008$	$\pm 0,012$
%	100	94 ^x	124 ^x	127 ^{xx}	100	138 ^x	115 ^x	112 ^{xx}	100	93 ^x	95 ^x	116 ^{xx}
P		>0,5	<0,05	<0,01		<0,01	<0,05	<0,05		>0,5	>0,5	<0,05

Обозначения: норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2); гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4); %^x — сравниваются с группами 1; %^{xx} — сравниваются группы 3 и 4.

Таблица 22

Влияние хронической гипоксии на дыхание
в митохондриях печени (субстрат сукцинат)

Контрольные животные							
	V_{4DO}	V_3	V_4	ДКЛ	ДКЧ	АДФ:О	V_{ϕ}
1	28,68	71,78	35,89	3,47	2,00	1,73	124,18
2	12,35	40,95	28,15	3,32	1,45	1,99	81,65
3	11,90	56,00	24,50	4,71	2,29	1,88	105,58
4	17,30	92,10	33,66	5,32	2,74	1,88	173,56
5	14,56	51,46	26,88	3,53	1,92	1,92	99,06
6	12,46	38,17	20,54	3,06	1,86	2,30	90,09
$M \pm$	14,88	58,41	28,27	3,90	2,04	1,95	112,34
$\pm$	$\pm 1,54$	$\pm 8,79$	$\pm 2,43$	$\pm 0,42$	$\pm 0,18$	$\pm 0,07$	$\pm 13,64$

Адаптированные к гипоксии животные

	V_{4DO}	V_3	V_4	ДКЛ	ДКЧ	АДФ:О	V_{ϕ}
1	17,76	64,45	34,81	3,63	1,85	1,97	126,97
22	14,56	68,64	22,88	4,71	3,00	1,92	131,71
3	18,74	76,08	23,43	4,06	3,25	2,19	166,62
4	21,84	115,44	43,16	5,29	2,68	1,80	207,79
5	16,80	66,72	24,96	3,97	2,67	2,48	165,47
6	16,18	67,60	24,27	4,18	2,78	2,02	136,55
$M \pm$	17,65	76,49	28,92	4,31	2,71	2,06	155,86
$O \pm$	1,01	7,28	3,76	0,26	0,17	0,10	13,50
%	118,6	131,0	—	110,0	132,9	106,0	138,7
P	< 0,1	< 0,01	—	> 0,25	< 0,05	—	< 0,05

це и скелетных мышцах у адаптированных к гипоксии морских свинок (D.V.Таррап и др., 1957a), а также в скелетных мышцах белых крыс при тренировках и физической нагрузке (I.O.Holloszy и соавт., 1970).

Ежедневные, в течение 14 суток, введения глутаминовой кислоты через зонд в желудок в период адаптации крыс к гипоксии сопровождаются стимуляцией сукцинатоксидазной системы в митохондриях печени (27%), сердца (12%) и коркового слоя почек (16%) (табл. 21, группы 3 и 4).

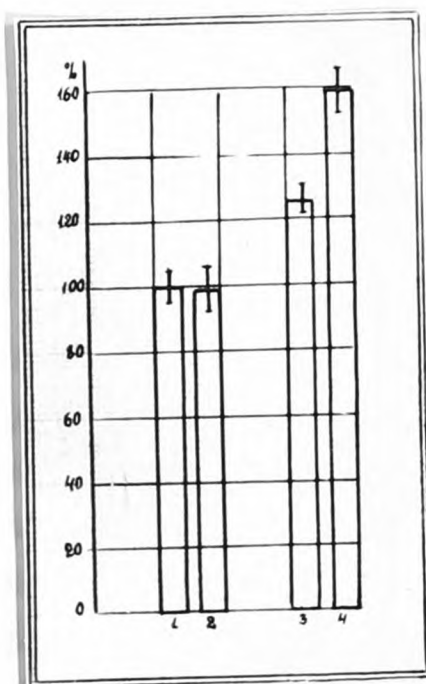


Рис. 23

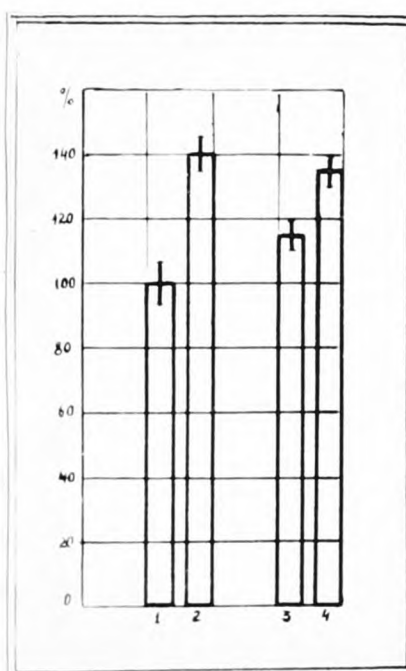


Рис. 24

Активность СДГ в митохондриях печени (рис.23) и сердца (рис.24). Обозначения: норма, в течение 14 дней вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2); адаптация к гипоксии, 14 дней вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4).

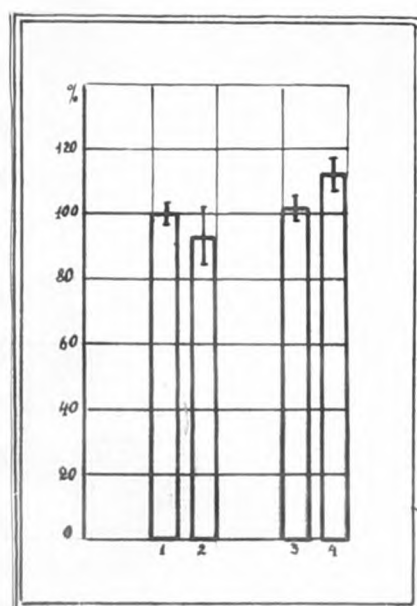


Рис.25. Активность СДГ в митохондриях коркового слоя почек. Обозначения : норма, 14 дней вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2); гипоксия, 14 дней вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4).

На рис. 23, -25 представлены результаты экспериментов, где за 100% приняты показатели первых групп животных. В нормальных условиях опытов глутамат натрия (группа 2) стимулирует активность СДГ лишь в митохондриях сердца на 40%. При этом в митохондриях печени и почек изменений в активности фермента не наблюдается. На этих же рисунках показано, что глутамат стимулирует активность СДГ в митохондриях, выделенных из печени, сердца и коркового слоя почек акклиматизированных к гипоксии животных.

Механизм стимулирующего действия глутамата на активность СДГ обсуждался ранее (глава 3). Здесь следует отметить, что многие авторы считают увеличение активности сукцинатоксидазной системы как адаптационный механизм к кислородному голоданию

(D.Y.Tarpan и соавт., 1957a; I.O.Holloszy и соавт., 1970; М.Н.Кондрашова, 1970, 1971, 1972). Как отмечалось ранее, глутамат оказывает прогипоксическое действие на активность сукцинатдегидрогеназы в условиях острой гипоксии. Подобный эффект наблюдается и у адаптированных к дефициту кислорода животных. Следовательно, глутамат, стимулируя активность сукцинатоксиданной системы в митохондриях, оказывает адаптогенное действие, усиливая физиологические приспособительные механизмы к кислородному голоданию.

2. АКТИВНОСТЬ ГЛУТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ, СЕРДЦА И ПОЧЕК ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

Активность глутаматдегидрогеназы в процессе адаптации к дефициту кислорода в организме не исследовалась. Этот фермент является специфичным для митохондрий (А.А.Покровский и др., 1968) и относится к ключевым ферментам (В.П.Скулачев, 1969), занимающим важное место в метаболических процессах организма (Г.Томкинс, К.Йилдинг, 1964; А.Д.Виноградов, 1967a; R.B.Freedman, G.K.Radda, 1969). Поэтому эта серия опытов была посвящена изучению активности ГДГ в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек при адаптации белых крыс к гипоксии. Важно также было исследовать влияние глутамата на активность этого фермента при хроническом кислородном голодании.

В таблице 23 приведены результаты опытов по определению активности глутаматдегидрогеназы. Показано, что в митохондриях печени адаптированных к гипоксии животных наблюдается тенденция к снижению активности ГДГ, а в саркосомах сердца она не отличается от активности ГДГ контрольной группы животных. В митохондриях почек изменения носят иной характер. В этих гранулах увеличивается активность глутаматдегидрогеназы на 19%.

По-разному влияет и глутаминовая кислота на активность ГДГ в

митохондриях исследуемых органов (группы 3 и 4). Если в митохондриях печени активность ГДГ под влиянием глутамата повышается на 26%, то в митохондриях сердца это увеличение более выражено и составляет 97% по сравнению с активностью глутаматдегидрогеназы митондрий контрольных животных, находившихся в условиях хронической гипоксии. В митохондриях коркового слоя почек глутамат в этих же условиях опытов не оказывает влияния на активность ГДГ.

При более тщательном анализе этих результатов прослеживается определенная закономерность влияния глутамата на активность ГДГ (рис. 26, 27, 28). Если в митохондриях печени, где выявляется тенденция к ингибированию активности ГДГ под влиянием хронической гипоксии (рис. 26) глутамат восстанавливает активность этого фермента до уровня контрольной группы, то в митохондриях коркового слоя почек, где происходит гипоксическая стимуляция активности дегидрогеназы глутамата, эта аминокислота не влияет на его активность (рис. 28, группы 3, 4). Особенно выражено стимулирующее действие глутамата при хронической гипоксии в митохондриях сердца. При этом активность ГДГ превышает таковую у контрольных животных более, чем в 2 раза (рис. 27).

В приведенной выше серии опытов, кроме активности ферментов, определяли тканевое дыхание в митохондриях печени с использованием в качестве субстрата дыхания глутаминовой кислоты. В митохондриях печени адаптированных к гипоксии животных (табл. 24) увеличивается дыхательный контроль по Чансу (ДКЧ) на 26% и имеется явная тенденция к стимуляции скорости фосфорилирования АДФ в АТФ (v_{ϕ}). При этом следует отметить, что скорости дыхания без АДФ (v_0) и после полного фосфорилирования добавленного АДФ (v_4) одинаковы с контролем. Это свидетельствует об одинаковой сопряженности окисления с фосфорилированием в митохондриях печени у контрольных и адаптированных к гипоксии животных.

Активность ГДГ в митохондриях при хронической гипоксии
и под влиянием глутамата (в мм на 1 мг белка митохондрий в 1 мин)

№	Печень				Сердце				Почки			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	27,0	15,6	8,5	21,3	9,8	9,7	7,5	30,0	12,6	9,0	16,3	12,0
2	12,9	18,6	8,0	30,2	6,5	8,1	7,5	25,0	15,8	12,0	16,3	12,0
3	17,4	15,7	18,8	21,6	5,1	10,8	6,9	30,0	9,0	12,6	11,4	17,4
4	20,0	15,7	14,5	12,0	5,1	6,0	6,9	25,7	9,0	12,6	12,8	14,4
5	13,2	15,0	16,6	12,0	9,9	9,0	7,0	20,8	10,3	10,0	10,8	16,1
6	10,0	14,0	14,0	14,0	9,9	8,1	7,0	18,4	10,3	10,0	12,6	18,9
7	17,0	15,0	18,0	17,7	8,4	6,0	7,5	12,0	12,0	10,5	15,8	14,0
8	15,0	21,0	13,0	16,5	9,6	6,0	6,0	9,0	10,8	15,0	9,9	15,7
9	12,5	22,5	14,2	16,5	6,5	6,0	9,2	13,2	15,8	12,0	12,0	12,8
10	14,5	20,0	14,2	17,0	7,5	6,0	9,2	16,2	10,5	15,0	17,1	15,0
11	18,1	23,5	14,2	—	8,0	10,5	6,9	9,2	11,7	12,0	18,0	15,0
12	19,5	18,1	16,0	—	5,2	6,0	9,2	13,8	11,7	15,0	21,0	—
13	23,2	18,1	15,4	—	6,3	6,0	9,9	9,9	9,8	15,0	—	—
14	20,5	20,0	17,3	—	5,8	7,0	9,9	9,9	15,0	15,0	—	—
15	18,5	20,0	12,0	—	9,0	—	9,9	—	12,0	12,0	—	—
16	14,7	16,5	14,2	—	10,5	—	12,0	—	15,0	15,0	—	—
17	13,0	17,9	12,3	—	7,5	—	13,9	—	13,5	15,0	—	—
18	14,5	—	12,3	—	9,0	—	12,0	—	—	15,0	—	—
19	18,1	—	—	—	—	—	9,8	—	—	12,0	—	—
20	15,0	—	—	—	—	—	9,6	—	—	—	—	—
M [±]	16,7 [±]	18,8 [±]	14,1 [±]	17,9 [±]	7,7 [±]	7,5 [±]	8,8 [±]	17,4 [±]	12,1 [±]	12,2 [±]	14,5 [±]	14,8 [±]
±m	± 0,9	± 0,8	± 0,6	± 1,4	± 0,4	± 0,5	± 0,4	± 1,9	± 0,7	± 0,4	± 0,9	± 0,6
%	100	112 ^x	84 ^x	126 ^{xx}			114 ^x	197 ^{xx}			119 ^x	102 ^{xx}
P		<0,05	<0,05	<0,01			>0,5	<0,001			<0,05	>0,5

Обозначения: 1, 3 — вводится физиологический раствор,
2, 4 — вводится глутамат натрия;
%^x — сравниваются с группами 1,
%^{xx} — сравниваются группы 3 и 4.

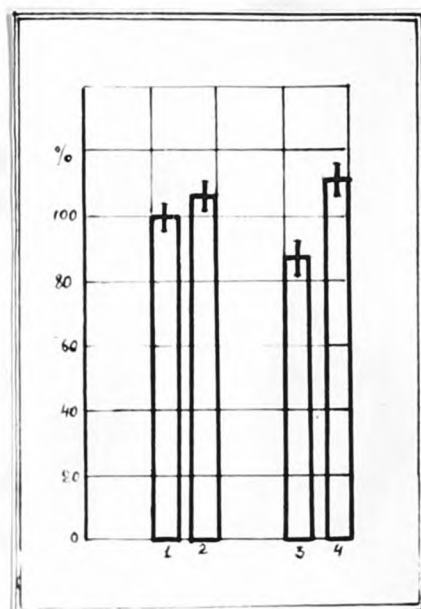


Рис. 26

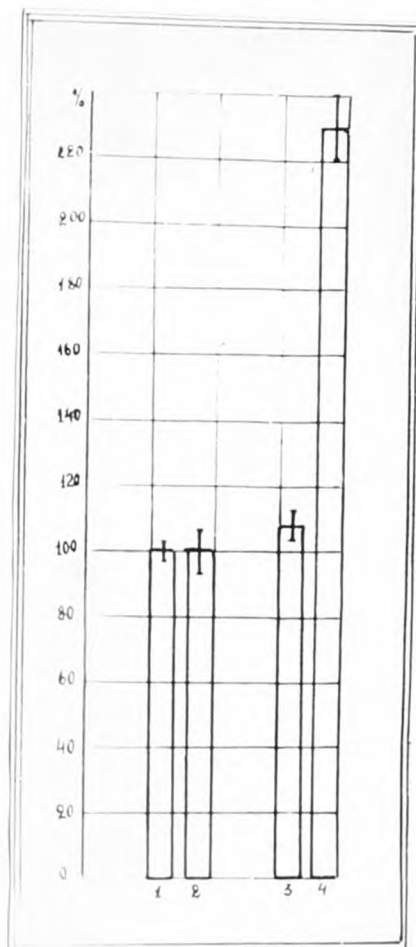


Рис. 27

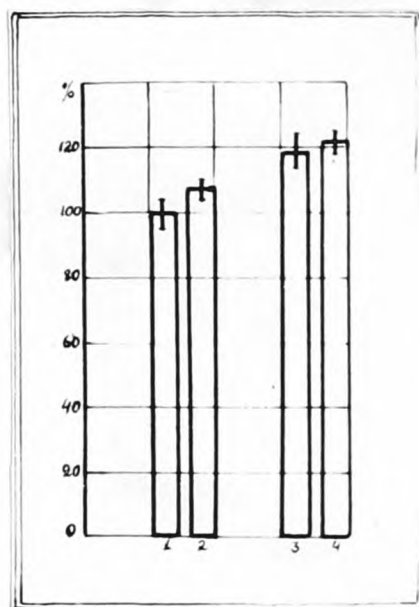


Рис. 28

Активность глутаматдегидрогеназы в митохондриях печени (рис. 26), сердца (рис. 27) и коркового слоя почек (рис. 28) (в % к первым группам). Обозначения: норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2); хроническая гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4)

Таблица 24

Влияние хронической гипоксии и глутамата
на дыхание митохондрий печени (субстрат-глутамат)

Показатели	Норма, вводился физиологический раствор	Г и п о к с и я	
		вводился физиологический раствор	вводился глутамат
V 4 до	10,13±0,75	10,25±0,80	10,93±0,58
V 3	29,83±1,60	34,28±2,69 115%, P > 0,05	107%, P > 0,5 32,47±1,35 95%, P > 0,5
V 4	16,92±1,06	16,14±1,99	16,23±1,63
ДКл	2,98±0,13	3,39±0,20 114%, P > 0,1	3,03±0,17 89%, P > 0,1
ДКч	1,76±0,07	2,21±0,22 126%, P < 0,05	2,11±0,17 95%, P > 0,5
АДФ : О	2,42±0,17	2,49±0,21	2,67±0,27 107%
V φ	72,02±6,69	118%, P > 0,05	85,46±7,77

Примечание: приведены средние данные из 6-10 опытов.

Все показатели тканевого дыхания, так же как и спектрофотометрическое определение активности ГДГ, в митохондриях печени животных, находившихся в условиях хронической гипоксии и получавших глутамат, не отличаются от подобных показателей контрольных животных.

Таким образом, результаты этой серии опытов показывают, что при адаптации к гипоксии активность глутаматдегидрогеназы в митохондриях разных органов изменяется не однозначно: в митохондриях печени она уменьшается, а в гранулах сердца и почек — увеличивается.

У адаптированных к гипоксии животных по сравнению с контролем дыхание в митохондриях печени выше в третьем метаболическом состоянии, увеличивается также дыхательный контроль по Чансу и скорость фосфорилирования АДФ в АТФ. Глутаминовая кислота на фоне хронической гипоксии нормализует активность ГДГ в митохондриях печени и стимулирует ее в гранулах сердца.

3. АКТИВНОСТЬ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ, СЕРДЦА И ПОЧЕК ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

На активность малатдегидрогеназы могут влиять вещества различной природы: окисленные и восстановленные формы НАД, щавелевоуксусная кислота, глутамат и ряд других соединений (D. Durotque, 1969; B.D.Sarval, 1969; S.Guruprasand и соавт., 1970; М.Н.Кондрашова, 1971). Концентрация указанных выше веществ претерпевает значительные изменения в условиях острого кислородного голодания. Изменяется также и активность малатдегидрогеназы в условиях острой гипоксии и при введении в организм глутамата (см. гл. 3). Поэтому определение активности дегидрогеназы яблочной кислоты в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек животных, акклиматизированных в течение 14 дней к гипоксии ("высота" 6000м, по 6 часов в день), и влияние ежедневных введений через зонд в желудок глутамата на эти процессы представляло значительный теоретический и практический интерес. Эти эксперименты позволят путем сравнения результатов опытов при острой и хронической гипоксии выявить адапционные сдвиги в активности малатдегидрогеназы, а также оценить влияние глутамата на активность дегидрогеназы яблочной кислоты в процессе адаптации к гипоксии.

В таблице 25 представлены результаты опытов по влиянию хронической гипоксии и глутамата на активность малатдегидрогеназы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек белых крыс. Анализ

этих результатов показывает, что активность дегидрогеназы яблочной кислоты в митохондриях разных органов при адаптации к гипоксии изменяется по-разному. Если в митохондриях печени отсутствуют различия в активности малатдегидрогеназы акклиматизированных к гипоксии крыс по сравнению с контрольной группой животных, то в митохондриях сердца и почек она повышается соответственно на 32 и 28%.

Сопоставление результатов опытов острой и хронической гипоксии позволяет проследить изменения в активности МДГ в процессе адаптации животных к недостатку кислорода. Если в митохондриях печени и почек после острой гипоксии наблюдается снижение активности МДГ, то при адаптации к дефициту кислорода она повышается в печени до уровня контрольных животных, а в почках на 28% превышает этот уровень. Поэтому снижение активности МДГ в митохондриях печени и почек при острой кислородной недостаточности в организме не является адаптационным механизмом к гипоксии, а скорее всего это — следствие повреждающего действия острой гипоксии на структуру и функцию митохондрий. Иной характер носят изменения в активности дегидрогеназы яблочной кислоты в митохондриях сердца: в этих гранулах как при острой (табл. 12), так и при хронической гипоксии (табл. 25) выявлено увеличение активности МДГ. Мы предполагаем, что однозначный сдвиг в активности МДГ при острой и хронической гипоксии можно расценить как адаптационный.

Длительные введения в желудок глутамата (препарат вводился в дозе 1 мг на 1 г веса ежедневно в течение двух недель) в нормальных условиях опытов в митохондриях печени и сердечной мышцы стимулируют активность МДГ (табл. 25, рис. 29,30), однако в митохондриях почек в этих условиях опытов обнаружено снижение активности дегидрогеназы малата (табл. 25). Иначе действует глутамат на активность МДГ в условиях хронической гипоксии: он не влияет на активность малатдегидрогеназы в печени и стимулирует ее в сердечных и почечных

Таблица 25

Активность малатдегидрогеназы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек при хронической гипоксии и под влиянием глутамата (в мкм на I мг белка митохондрий в I мин)

№	Печень				Сердце				Почки			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	I	2	3	4	I	2	3	4	I	2	3	4
I	36,4	24,3	23,7	28,4	30,0	24,8	35,0	35,1	12,0	7,3	14,3	16,1
2	29,0	23,0	30,2	36,4	21,4	28,4	25,4	40,0	12,0	7,3	14,3	12,7
3	28,0	31,4	32,0	27,8	24,9	28,0	27,7	34,3	15,2	9,4	12,2	22,8
4	25,2	31,3	33,0	23,0	20,0	18,8	20,0	32,1	15,2	10,6	10,8	20,0
5	20,7	30,0	34,0	27,2	18,0	21,3	20,0	21,6	11,6	8,4	9,5	16,1
6	15,4	25,0	30,2	24,0	20,0	18,2	24,0	24,0	9,0	8,4	9,5	16,1
7	27,0	35,0	35,2	22,6	16,8	21,2	27,6	32,3	7,3	8,4	9,0	12,0
8	25,0	30,0	21,5	32,0	14,4	27,2	32,0	36,9	8,1	7,3	9,0	14,0
9	25,0	25,0	34,8	26,6	18,0	24,0	30,0	25,0	6,7	7,0	18,0	12,0
10	17,3	29,0	29,0	26,0	21,0	28,4	18,5	32,5	12,8	7,3	15,0	13,5
11	21,5	27,0	27,0	—	19,2	—	22,5	32,5	12,0	12,0	21,0	15,7
12	27,0	30,0	30,2	—	16,8	—	30,0	32,5	9,6	12,0	19,5	14,3
13	27,0	34,0	30,2	—	16,1	—	30,0	—	9,5	9,6	17,1	19,5
14	24,0	30,0	19,4	—	21,8	—	—	—	—	9,5	16,3	18,0
15	27,0	26,4	22,4	—	—	—	—	—	—	9,7	12,8	—
16	28,0	26,4	12,0	—	—	—	—	—	—	9,6	14,8	—
17	24,6	30,0	23,0	—	—	—	—	—	—	—	12,0	—
18	29,0	26,0	18,0	—	—	—	—	—	—	—	16,5	—
19	29,0	—	21,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	22,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
21	22,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22	21,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
23	21,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M±	24,9± ± 0,7	28,3± ± 0,8	26,7± ± 1,4	27,4± ± 1,3	19,8± ± 1,0	23,9± ± 1,2	26,3± ± 1,1	31,5± ± 1,5	10,8± ± 0,6	8,9± ± 0,5	13,9± ± 0,9	15,9± ± 0,8
%	100	113 ^X	107 ^X	103 ^{XX}	100	120 ^X	132 ^X	119 ^{XX}	100	82 ^X	128 ^X	114 ^{XX}
P		<0,01	>0,5	>0,5		<0,05	<0,01	<0,01		<0,01	<0,01	>0,5

Примечания: I, 3 — вводился физиологический раствор,

2, 4 — вводился глутамат натрия;

%^X — сравнение с группами I,

%^{XX} — сравниваются группы 3 и 4.

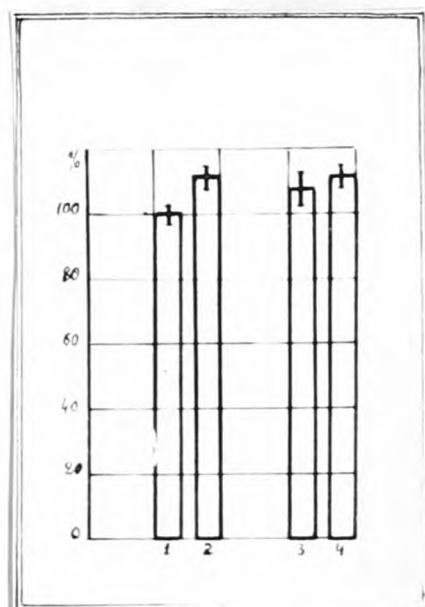


Рис. 29

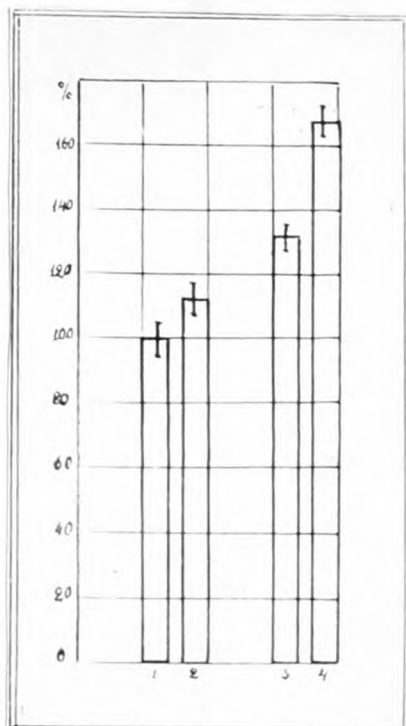


Рис. 30

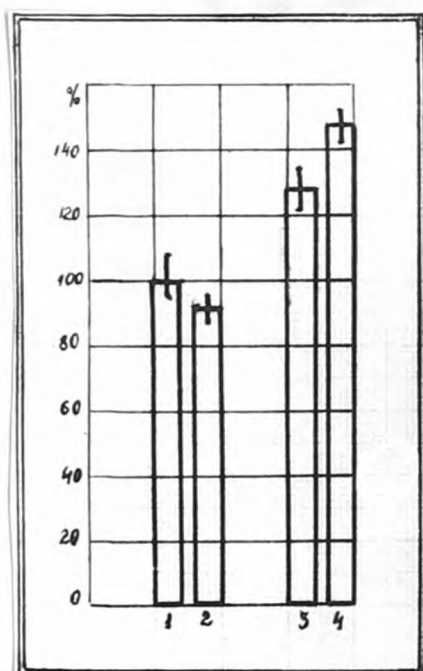


Рис. 31

Активность малатдегидрогеназы в митохондриях печени (рис.29), сердца (рис.30) и коркового слоя почек (рис. 31) в % к первым группам. Обозначения: норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат (2); хроническая гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат (4).

митохондриях (рис. 29-31). Обращает внимание совпадение направленности изменений в активности дегидрогеназы малата под действием хронической гипоксии и глутамата. Так, в митохондриях сердечной мышцы и коркового слоя почек выявлено прогипоксическое действие глутамата на активность МДГ. Следовательно, глутамат как при острой гипоксии, так и в условиях хронического кислородного голодания оказывает адаптогенное действие, проявляющееся в виде стимуляции активности малатдегидрогеназы митохондрий сердца и коркового слоя почек.

Таким образом, у адаптированных в течение 14 дней к гипоксии животных выявлено увеличение активности МДГ в митохондриях сердца и коркового слоя почек. Глутамат, вводимый ежедневно в течение 14 суток через зонд в желудок, в этих же условиях опытов стимулирует активность МДГ в митохондриях сердечной мышцы и почек. Действие глутамата на активность малатдегидрогеназы расценивается как адаптогенное.

4. АКТИВНОСТЬ НАДН: ЦИТОХРОМ С-ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ, СЕРДЦА И ПОЧЕК ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

Несмотря на обилие литературы, посвященной тканевым адаптационным механизмам к хронической гипоксии, нам удалось найти лишь единичные работы, в которых изучали активность НАДН:цитохром С-оксидоредуктазного комплекса в митохондриях (Ю.М.Хмелевский, 1966, 1966а). Следует отметить, что функциональное состояние этого комплекса претерпевает значительные изменения при различных воздействиях на организм (М.Н.Кондрашова, 1969, 1970, 1971; G.Michael и соавт., 1959; J.L.Glick, 1966; М.М.Эпштейн и соавт., 1966; Н.Д.Ещенко и соавт., 1969; Naulica и др., 1971; см. наши данные, глава 3).

НАДН:оксидоредуктазный комплекс играет очень важную роль в перестройке метаболизма митохондрий в условиях острого кислородного

голодания: восстановленные формы НАД являются донорами водорода для восстановления пирувата в молочную кислоту, ацетоуксусной кислоты в β -оксимасляную, ПУК в малат и т.д. (O.Wieland и соавт., 1961, 1964; M.S.Olson и соавт., 1967, 1967a; R.Scholz и соавт., 1969). Водород с НАДН может использоваться для восстановления фумаровой кислоты в сукцинат (L.Seidman и соавт., 1961; N.J.Wollin и соавт., 1961; M.H.Кондрашова, 1968, 1969б). Одним из продуктов этой реакции является АТФ. Синтез АТФ при этом может происходить в анаэробных условиях в результате транспорта электронов на фумаровую кислоту через цитохром В с выключением первого пункта фосфорилирования с коэффициентом $P : 2e$, равным 0,43 (M.A.Wilson, I.Cascarano, 1970). Активно участвует в указанных выше процессах и глутаминовая кислота (C.Layne Emis, S.P.Bezman, 1968; M.H.Кондрашова, 1971). Поэтому представлялось целесообразным исследовать влияние хронической гипоксии и глутамата на активность НАДН:цитохром С-оксидоредуктазного комплекса в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек в эксперименте на белых крысах.

Анализ результатов опытов, представленных в таблице 26, показывает, что в митохондриях печени и сердца активность указанного комплекса ферментов у адаптированных к гипоксии животных одинакова с контрольной группой крыс (группы I и 3). Однако скорость восстановления цитохрома С при окислении восстановленного НАД в митохондриях коркового слоя почек в условиях хронической гипоксии значительно выше таковой контрольной группы и составляет 120%.

В наших опытах с острой гипоксией (табл. 13) показано, что в митохондриях печени после 30- и 60-минутной гипоксии обнаружено снижение активности НАДН-дегидрогеназного комплекса. Однако уже после 2-часовой гипоксии активность НАДН:цитохром С-оксидоредуктазы

Активность НАДН: цитохром С-оксидоредуктазы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек при хронической гипоксии и введении глутамата (ΔE на 1 мг белка митохондрий в 1 мин)

№	Печень				Сердце				Почки		
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия		Норма	Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	3	4
1	0,571	0,595	0,500	0,705	0,178	0,235	0,208	0,208	0,290	0,350	0,325
2	0,571	0,595	0,447	1,000	0,178	0,235	0,208	0,208	0,342	0,400	0,350
3	0,625	0,516	0,472	1,130	0,166	0,366	0,154	0,214	0,275	0,386	0,336
4	0,468	0,516	0,613	0,643	0,200	0,266	0,154	0,208	0,350	0,363	0,266
5	0,536	0,320	0,607	0,575	0,200	0,235	0,176	0,200	0,340	0,285	0,375
6	0,455	0,300	0,750	0,766	0,175	0,200	0,205	0,230	0,360	0,333	0,400
7	0,666	0,315	0,425	0,891	0,200	0,218	0,187	0,333	0,405	0,372	0,380
8	0,611	0,342	0,750	0,766	0,233	0,250	0,218	0,291	0,379	0,421	0,380
9	0,579	0,305	0,718	0,750	0,133	0,133	0,192	0,250	0,267	0,400	0,425
10	0,637	0,600	0,588	0,833	0,200	0,160	0,146	0,291	0,305	0,400	0,450
11	-	0,600	0,647	-	0,200	0,321	0,146	-	0,372	0,350	-
12	-	0,595	0,688	-	0,180	0,357	0,200	-	0,372	0,400	-
13	-	0,318	0,750	-	0,181	0,366	0,208	-	0,271	0,450	-
14	-	0,318	0,678	-	0,181	0,400	0,166	-	0,250	0,425	-
15	-	-	0,535	-	0,191	0,411	0,166	-	0,355	0,357	-
16	-	-	0,510	-	0,191	0,411	0,166	-	0,300	0,380	-
17	-	-	0,647	-	0,144	0,300	0,160	-	0,237	0,425	-
18	-	-	0,500	-	0,200	0,250	0,200	-	-	0,450	-
19	-	-	-	-	0,182	0,172	0,230	-	-	-	-
20	-	-	-	-	0,166	0,181	0,230	-	-	-	-
21	-	-	-	-	0,178	0,157	0,166	-	-	-	-
22	-	-	-	-	0,175	0,157	0,208	-	-	-	-
23	-	-	-	-	0,175	-	-	-	-	-	-
±	0,572±	0,467±	0,620±	0,805±	0,178±	0,262±	0,186±	0,243±	0,320±	0,385±	0,369±
±	0,022	±0,033	±0,025	± 0,052	±0,004	±0,018	±0,005	±0,004	±0,012	±0,009	±0,016
	100	82 ^x	105 ^x	140 ^{xx}	100	148 ^x	103 ^x	130 ^{xx}	100	120 ^x	95 ^{xx}
		<0,05	>0,5	<0,01		<0,01		<0,001		<0,001	>0,5

Примечания: 1,3 - вводился физиологический раствор; 2,4 - вводился глутамат натрия;
^x - сравнение с группами 1, ^{xx} - сравниваются группы 3 и 4.

восстанавливается. В митохондриях сердца и почек каких-либо изменений в активности дегидрогеназы восстановленного НАД после 60-минутной гипоксии выявить не удалось.

Эти результаты позволяют сделать заключение о том, что, несмотря на уменьшение эндогенных пиридиннуклеотидов (G. Michael и др., 1959), митохондрии печени, сердца и коркового слоя почек сохраняют высокую способность к окислению экзогенного НАДН в условиях острой (60-120 мин) и хронической гипоксии. Подобные результаты были получены J. M. Lemley, G. R. Meneely (1952) и K. E. Moor, T. M. Brody (1960).

В таблице 26, а также на рис. 32, 33, 34 представлены результаты опытов по влиянию глутамата на активность дегидрогеназы восстановленного НАД. Анализ этих данных показывает, что этот препарат, вводимый в течение 2 недель через зонд в желудок, в нормальных условиях опытов (группы I и 2) повышает активность НАДН:цитохром С-редуктазы лишь в митохондриях сердца. В условиях хронической гипоксии подобные назначения глутамата стимулируют активность дегидрогеназы НАДН в митохондриях печени и сердца и не влияют на таковую в гранулах почек, где сама гипоксия стимулирует данный комплекс ферментов.

Разница во влиянии глутамата на окислительные процессы в норме и при гипоксии была обнаружена в экспериментах на животных А. М. Генкиным и Н. А. Удинцевым (1958, 1959), а также в наших исследованиях (А. М. Генкин, Н. А. Глотов, 1967).

Реакция митохондрий в ответ на введение в организм глутамата, по всей вероятности, во многом определяется тем, в каком метаболическом состоянии они находятся. Известно, что метаболическое состояние митохондрий изменяется в зависимости от силы и продолжительности воздействия на организм различных факторов внешней среды (М. Н. Кондрашова, 1971). В опытах *in vitro* многие авторы наблюдали

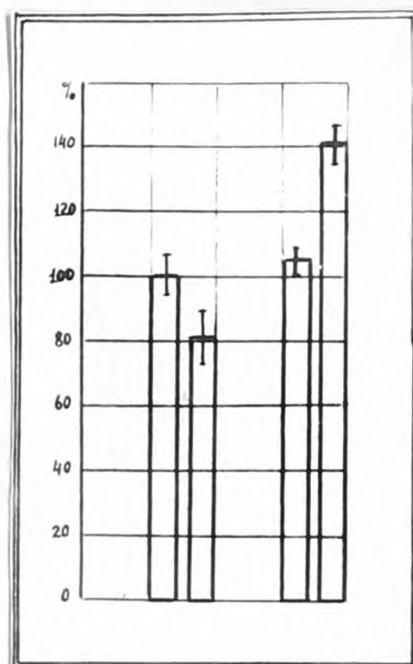


Рис. 32

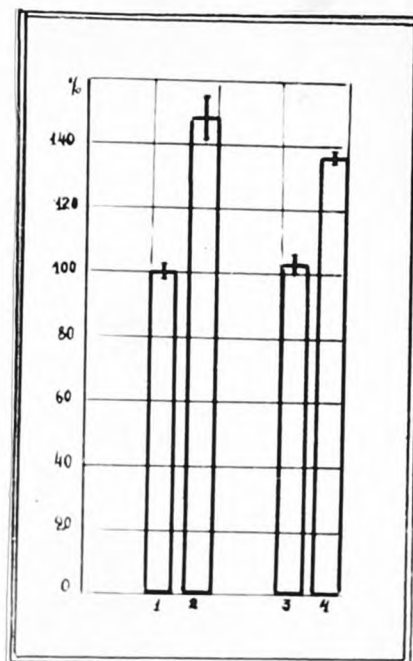


Рис. 33

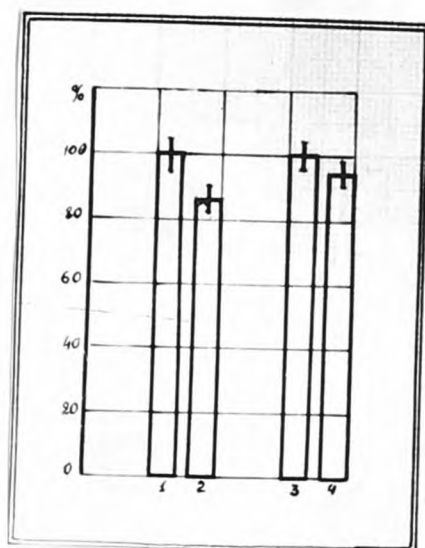


Рис. 34

Активность НАДН:цитохром С-оксидоредуктазы в митохондриях печени (рис. 32), сердца (рис. 33) и коркового слоя почек (рис. 34) при хронической гипоксии и введении глутамата (в % к группам I). Обозначения: норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат (2); гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат (4).

переключение одного вида обмена глутамата на другой с соответствующими изменениями скорости окисления различных субстратов в митохондриях (P. Borst, 1962; M. Klingenberg, 1963; C. Frieden, 1963; L. A. Fahnen, M. Stremsky, 1969a; М. Н. Кондрашова, 1971).

Подводя итог изложенному в этом разделе, следует отметить, что у адаптированных к гипоксии животных митохондрии печени, сердца и особенно коркового слоя почек сохраняют высокую способность к окислению восстановленного НАД. На этом фоне глутамат стимулирует активность НАДН: цитохром С-оксидоредуктазы в митохондриях печени и сердца и не изменяет ее в гранулах почек, где активация указанного фермента происходит в результате акклиматизации к гипоксии. В нормальных условиях опытов глутамат стимулирует активность НАДН-оксидазного комплекса в митохондриях сердца.

5. АКТИВНОСТЬ ЦИТОХРОМ С-ОКСИДАЗЫ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ, СЕРДЦА И ПОЧЕК ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

Исследование активности цитохром С-оксидазы при гипоксии представляет большой интерес в связи с тем, что этот фермент принимает непосредственное участие в активации кислорода, являющегося конечным акцептором электронов и протонов с ферментов дыхательной цепи. Изучению изменений активности цитохром С-оксидазы при гипоксии посвящено большое количество работ (З. К. Сулимо-Самуйко, 1952; D. V. Tarran и соавт., 1957, 1957a; B. Rajnarajje, D. Green, 1960; В. И. Мамлюк, 1965; И. П. Попов, 1965, 1966, 1966a, 1966b; А. И. Струков, К. С. Митин, 1971). Однако результаты этих экспериментов не однозначны и не позволяют сделать определенных выводов.

Работ, посвященных влиянию глутаминовой кислоты на активность цитохромоксидазы при хронической гипоксии, в литературе нет. Поэтому нам представлялось целесообразным исследовать влияние хронической

гипоксии и глутамата на активность цитохромоксидазы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек.

Результаты, представленные в таблице 27, свидетельствуют о том, что при адаптации белых крыс к гипоксии на "высоте" 6000 м по 6 часов в день в течение двух недель происходит снижение активности цитохромоксидазы в митохондриях печени на 18% по сравнению с контрольной группой животных (группы I, 3). Изменений со стороны активности цитохромоксидазы в митохондриях сердца и почек в этих же условиях опытов не обнаружено (табл. 27, группы I, 3). Подобные сдвиги происходят и при острой гипоксии (глава III), когда активность цитохромоксидазы после 60 мин гипоксии в митохондриях печени снижается, а в гранулах сердца и почек остается на уровне контрольной группы животных.

Глутамат натрия (препарат вводили ежедневно через зонд в желудок в течение 14 дней) в нормальных условиях опытов (табл. 27, группы I, 2) стимулирует активность цитохромоксидазы в митохондриях печени на 83%, сердца — на 48% и почек — на 20%. Стимулирующее действие глутамата проявляется и у адаптированных к гипоксии животных (группы 3, 4). Так, глутамат увеличивает активность цитохромоксидазы в митохондриях печени на 27%, сердца — на 46% и почек — на 26%.

Если принять за 100% активность цитохромоксидазы у контрольных групп животных (группы I), то выявляется следующее: в митохондриях печени (рис. 35) под влиянием хронической гипоксии активность цитохромоксидазы снижается (группа 3). На этом фоне глутамат оказывает нормализующее действие и повышает активность цитохромоксидазы до уровня контрольной группы (группы I, 4). Стимулирующее влияние глутаминовой кислоты на активность этого фермента в митохондриях печени более выражено в нормальных условиях, чем в условиях гипоксии (группы 2, 4).

Несколько другая картина наблюдается в митохондриях сердца и

Активность цитохром С-оксидазы в митохондриях печени, сердца и
и коркового слоя почек при хронической гипоксии и введении глутамата натрия
(ΔE на 1 мг белка митохондрий в 1 мин)

№	Печень				Сердце				Почки			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	0,530	0,606	0,133	0,353	0,278	0,268	0,230	0,375	0,263	0,200	0,238	0,250
2	0,407	0,606	0,300	0,550	0,278	0,343	0,230	0,375	0,237	0,350	0,214	0,300
3	0,407	0,697	0,411	0,654	0,166	0,475	0,192	0,321	0,175	0,263	0,181	0,309
4	0,500	0,512	0,324	0,333	0,166	0,380	0,270	0,321	0,175	0,333	0,181	0,309
5	0,418	0,606	0,321	0,475	0,233	0,325	0,208	0,307	0,242	0,361	0,300	0,333
6	0,405	0,590	0,362	0,333	0,233	0,260	0,233	0,346	0,242	0,200	0,225	0,333
7	0,375	0,715	0,230	0,344	0,200	0,346	0,200	0,360	0,280	0,200	0,200	0,200
8	0,246	0,634	0,300	0,400	0,233	0,475	0,200	0,360	0,240	0,300	0,325	—
9	0,289	1,133	0,325	—	0,250	—	0,307	0,307	0,242	0,300	0,250	—
10	0,300	1,057	0,324	—	0,333	—	0,307	0,423	0,300	0,325	0,150	—
11	0,541	0,924	0,511	—	0,270	—	0,250	0,458	0,188	0,300	0,200	—
12	—	0,924	0,423	—	0,270	—	0,250	0,416	0,194	—	0,171	—
13	—	—	0,262	—	—	—	—	0,275	0,166	—	0,285	—
14	—	—	0,392	—	—	—	—	0,275	0,176	—	0,300	—
15	—	—	0,425	—	—	—	—	—	0,330	—	—	—
16	—	—	0,342	—	—	—	—	—	0,235	—	—	—
17	—	—	0,205	—	—	—	—	—	0,300	—	—	—
18	—	—	0,278	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M±	0,409±	0,750±	0,338±	0,472±	0,242±	0,359±	0,239±	0,351±	0,234±	0,283±	0,230±	0,290
mm	± 0,030	± 0,060	± 0,027	± 0,042	± 0,014	± 0,029	± 0,011	± 0,014	0,012	± 0,020	± 0,014	0,018
	100	183 ^X	82 ^X	127 ^{XX}	100	148 ^X	97 ^X	146 ^{XX}	100	120 ^X	98 ^X	126 ^{XX}
		< 0,001 ^X	< 0,01	< 0,01		< 0,001	> 0,5	< 0,001		< 0,05		< 0,05

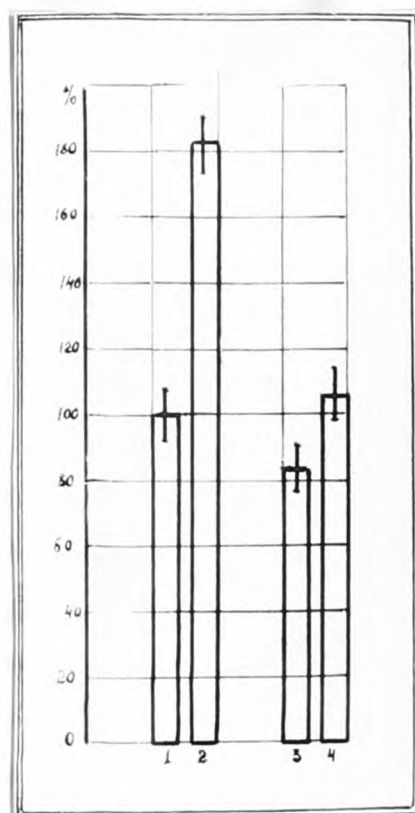


Рис. 35

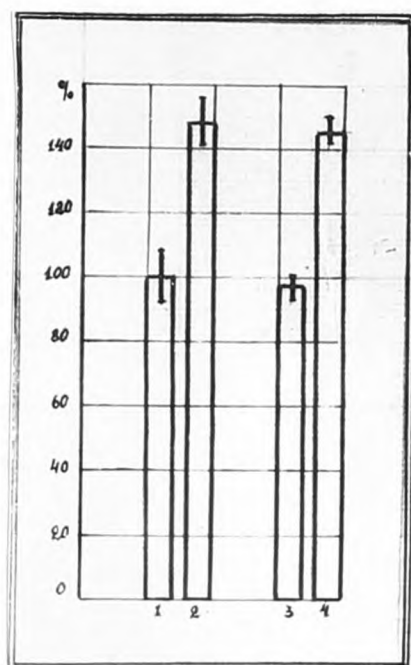


Рис. 36

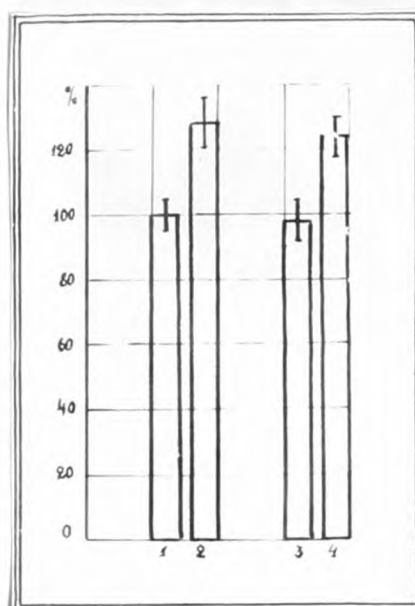


Рис. 37

Активность цитохром С-оксидазы в митохондриях печени (рис. 35), сердца (рис. 36) и коркового слоя почек (рис. 37) при хронической гипоксии и введении глутамата натрия. Обозначения: норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2); гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4).

коркового слоя почек. В митохондриях этих органов у адаптированных к хронической гипоксии животных активность цитохромоксидазы такая же, как и у интактных животных. Стимуляция глутаматом активности цитохромоксидазы в митохондриях сердца и почек проявляется в одинаковой степени как в норме, так и при гипоксии (рис.36,37).

Результаты наших опытов, посвященных исследованию активности цитохромоксидазы в митохондриях печени адаптированных к гипоксии животных, не совпадают с данными D.V.Tarраp и соавт. (1957a), которые выявили увеличение активности цитохромоксидазы в митохондриях печени морских свинок, адаптированных к гипоксии. Эти расхождения, вероятно, обусловлены разными условиями опытов. D.V.Tarраp и соавт. (1957a) производили адаптацию на "высоте" 4200 м в течение 75 дней, а в наших опытах — на "высоте" 6000 м в течение двух недель.

Условия акклиматизации к гипоксии оказывают существенное влияние на активность цитохромоксидазы. По мнению З.И.Барбашовой (1960,1966,1967), в зависимости от степени и продолжительности гипоксии активность цитохромоксидазы может быть сниженной и находиться в пределах нормы и активированной. Ингибирование цитохромоксидазы наблюдается, когда акклиматизация проводится в более жестком кислородном режиме, что имело место в наших опытах. Этим, вероятно, объясняется снижение активности цитохромоксидазы в митохондриях печени акклиматизированных к гипоксии животных.

Отсутствие изменений активности цитохром С-оксидазы в митохондриях сердца и коркового слоя почек у акклиматизированных к гипоксии животных, по-видимому, обусловлено функциональной особенностью этих органов. Сердечная мышца и почки в условиях гипоксии испытывают наиболее интенсивную нагрузку, от их деятельности зависит существование организма. Поэтому компенсаторные физиологические механизмы, связанные с доставкой кислорода к этим органам, очевидно, справляются

со своей задачей и обеспечивают их кислородом в количестве, необходимом для поддержания окислительных процессов на высоком уровне. Об этом же свидетельствуют наши опыты, где показано, что в митохондриях сердца и печени адаптированных к гипоксии животных активность глутаматдегидрогеназы, малатдегидрогеназы и НАДН:цитохром С-оксидазы значительно выше, чем у контрольных групп животных. Особенно резистентными к гипоксии являются митохондрии сердца. Даже в условиях жесткого кислородного режима при острой гипоксии активность ферментов тканевого дыхания в них остается на высоком уровне.

Существенным звеном к адаптации к кислородному голоданию является борьба тканевых ферментных систем за кислород. При этом важное место отводится активности цитохромоксидазы, стимуляция которой способствует более полному использованию кислорода митохондриями (З.И.Барбакова, 1963, 1966). Поэтому мы полагаем, что стимулирующее действие глутаминовой кислоты на активность цитохромоксидазы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек является одним из звеньев, с помощью которых глутамат способствует адаптации организма к кислородной недостаточности.

Таким образом, при акклиматизации животных к кислородному голоданию в течение 14 дней на "высоте" 6000м по 6 часов в сутки выявлено снижение активности цитохромоксидазы в митохондриях печени. Активность этого фермента не изменяется в митохондриях сердца и почек. Глутамат в нормальных условиях опытов стимулирует активность цитохромоксидазы в митохондриях печени и почек. В условиях гипоксии глутамат препятствует ингибированию активности цитохромоксидазы в митохондриях печени и активирует ее в митохондриях сердца и почек. Стимулирующее действие глутамата на активность цитохромоксидазы способствует адаптации животных к гипоксии.

6. АКТИВНОСТЬ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТАЗЫ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ, СЕРДЦА И ПОЧЕК ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

В условиях гипоксии происходит значительная перестройка в характере окислительного фосфорилирования. Эти изменения приводят к энергетическому дефициту в тканях организма (Ю.М.Гейтер и соавт., 1961, 1962, 1966; А.В.Захарова, 1962). Широко известно также, что в реакциях окислительного фосфорилирования непосредственное участие принимает аденозинтрифосфатаза, активируемая динитрофенолом (С.С.Коопер и соавт., 1955; С.С.Коопер, А.Леппингер, 1956, 1956а, 1957; В.Chance, 1957; С.Л.Уодкинс, 1961). В литературе имеются единичные работы, которые посвящены изучению активности ДНФ-активируемой АТФ-азы при адаптации к гипоксии (D.V.Tarpan и соавт., 1957а; В.Раунфарже и соавт., 1960; З.И.Барбашова, 1960, 1963, 1966). Следует также отметить, что совсем не изучалось влияние глутаминовой кислоты на активность АТФ-азы в процессе адаптации организма к кислородному голоданию.

Нами проведены исследования по изучению влияния хронической гипоксии и глутамата натрия на активность АТФ-азы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек.

Результаты таблицы 28 показывают, что в митохондриях, выделенных из печени и сердца адаптированных к гипоксии животных, активность Mg^{2+} и ДНФ-зависимых аденозинтрифосфатаз ниже, чем у контрольных крыс (группы 1,2). Так, в митохондриях печени активность ферментов уменьшается на 15 и 40%, а в саркосомах — на 44 и 37% соответственно. В этих же условиях опытов изменений со стороны обеих АТФ-аз в митохондриях коркового слоя почек не обнаружено.

Динитрофенол стимулирует так называемую "латентную" аденозинтрифосфатазную активность, которая выявляется за счет полного раз-

Активность АТФ-азы в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек при хронической гипоксии и введении глутамата натрия (в мк М Р на 1 мг белка митохондрий в час)

Печень						Сердце						Почки					
Mg ²⁺			ДНФ			Mg ²⁺			ДНФ			Mg ²⁺			ДНФ		
I	2	3	I	2	3	I	2	3	I	2	3	I	2	3	I	2	3
4,7	2,4	4,7	7,7	5,3	8,4	14,9	6,7	9,1	17,7	8,9	13,5	7,4	8,3	10,8	13,4	9,5	13,5
4,7	3,8	4,8	6,8	5,9	10,0	12,7	7,7	8,9	15,6	8,9	15,1	7,6	8,3	10,9	14,3	12,0	12,6
3,7	3,9	4,7	5,8	6,0	8,7	11,6	8,0	11,7	17,2	10,8	13,3	10,2	5,9	9,8	11,8	8,9	12,3
3,7	2,5	4,2	5,2	5,8	7,0	16,1	8,0	11,7	19,3	9,5	13,9	9,5	13,0	9,6	11,4	7,9	12,8
4,0	3,2	3,0	9,2	3,0	5,8	23,1	8,0	9,7	25,1	12,6	22,5	7,0	12,7	12,6	10,7	11,6	13,7
3,7	2,4	2,7	9,2	3,5	6,8	21,3	6,8	8,6	29,2	12,6	24,5	7,3	8,1	12,0	8,7	10,9	14,4
3,3	3,5	2,6	7,3	3,6	6,5	9,2	9,7	16,8	12,3	14,1	11,7	9,4	8,1	11,7	11,9	9,1	18,8
2,8	3,9	4,1	7,9	5,2	8,6	12,1	7,5	16,6	11,4	9,7	12,1	9,4	6,4	12,8	11,9	9,6	13,5
-	2,7	4,6	-	4,6	4,6	-	5,8	8,2	-	8,2	13,8	-	6,7	12,8	-	8,3	9,8
-	3,1	-	-	6,9	5,8	-	-	7,7	-	10,1	17,5	-	7,4	12,5	-	10,9	8,7
-	4,1	-	-	7,2	5,4	-	-	9,9	-	12,2	15,8	-	7,8	8,1	-	10,7	8,8
-	4,1	-	-	8,1	5,3	-	-	10,6	-	9,9	13,0	-	9,3	-	-	16,4	8,4
-	4,0	-	-	8,1	-	-	-	11,7	-	10,3	-	-	10,0	-	-	16,4	11,2
-	3,6	-	-	6,4	-	-	-	11,7	-	17,6	-	-	11,9	-	-	13,8	10,4
-	3,5	-	-	6,1	-	-	-	-	-	17,6	-	-	11,9	-	-	12,1	-
-	3,5	-	-	5,4	-	-	-	-	-	12,2	-	-	9,2	-	-	11,0	-
-	2,3	-	-	5,6	-	-	-	-	-	14,8	-	-	9,0	-	-	11,0	-
-	2,5	-	-	5,1	-	-	-	-	-	19,0	-	-	6,6	-	-	-	-
-	-	-	-	4,8	-	-	-	-	-	17,9	-	-	6,8	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13,9	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11,9	-	-	-	-	-	-	-
3,8±	3,3±	3,8±	7,4±	5,6±	6,9±	15,0±	8,5±	10,6±	18,4±	12,5±	15,5±	8,4±	8,8±	12,1±	11,8±	11,1	12,0
±0,1	±0,1	±0,3	±0,4	±0,3	±0,4	±1,7	±0,5	±0,7	±2,0	±0,7	±1,1	±0,4	±0,5	±0,5	±0,6	±0,5	±0,7
100	85	115	100	60	123	100	56	124	100	67	124	100	104	137	100	44	109
<0,05	<0,05 ^X		<0,001	<0,05 ^X		<0,001	<0,01 ^X		<0,01	<0,05 ^X				<0,01			

Примечания: норма, вводился физиологический раствор (1); гипоксия, вводился физиологический раствор (2) и глутамат (3); Р^X - сравниваются 2 и 3 группы.

общения окислительного фосфорилирования. Максимальная ДНФ-активируемая АТФ-азная активность наблюдается в прочносопряженных митохондриях (Н.А. Lardy, Н. Wellman, 1953; К.Д. Mayers, Е.С. Slater, 1957, 1957a). По активности этой АТФ-азы можно судить о степени сопряженности дыхания с фосфорилированием (С. Cooper, А. Lehninger, 1956, 1957; В. Chance, 1957; А.И. Толейкис, А.К. Прахивичус, 1971; Е.М. Хватова и др., 1971).

В наших опытах как с острой (табл. 18-20), так и с хронической гипоксией найдено снижение активности ДНФ-активируемой АТФ-азы. На основании этих данных можно сделать заключение, что под влиянием гипоксии (острой и хронической) происходит разобщение дыхания с фосфорилированием. Однако этот вывод дает не совсем полное представление об изменении окислительного фосфорилирования при адаптации к гипоксии. Мы полагаем, что более точные выводы о сопряженности дыхания с фосфорилированием можно сделать по разнице между активностью АТФ-азы с ДНФ и без него. В таблице 29 представлены результаты этих расчетов по группам.

Таблица 29

Разница между ДНФ-зависимой и Mg^{2+} активируемой АТФ-азной активностью в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек при острой и хронической гипоксии

	Печень		Сердце		Почки	
	2	3	2	3	2	3
Острая гипоксия	1,9 (12)	3,0 (10)	1,8 (12)	3,8 (10)	1,7 (10)	2,3 (10)
Хроническая гипоксия	2,30 (18)	3,1 (9)	4,0 (21)	4,9 (12)	2,3 (17)	0,1 (14)

Примечания: гипоксия, вводился физиологический раствор (2) и глутамат натрия (3); в скобках указано количество опытов.

Анализ этих результатов показывает, что разница между ДНФ и Mg^{2+} активируемыми АТФ-азами в условиях острой гипоксии меньше, чем у адаптированных к кислородному голоданию животных (группы 2). Эта закономерность выявляется в митохондриях печени, сердца и почек. Следовательно, у адаптированных к гипоксии животных в митохондриях печени, сердца и коркового слоя почек дыхание более сопряжено с фосфорилированием по сравнению с митохондриями, выделенными из этих же органов крыс после острой гипоксии. Однако активность АТФ-азы в митохондриях печени и сердца адаптированных к гипоксии животных не достигает уровня контрольных животных, что свидетельствует о легком разобщении окисления с фосфорилированием в указанных гранулах.

Глутамат натрия оказывает нормализующее влияние на активность Mg^{2+} и ДНФ-зависимых АТФ-аз в митохондриях печени и сердца при хронической гипоксии (табл. 28). Более наглядно нормализующее действие глутамата на активность указанных ферментов демонстрируется на рисунках 38-43, где все результаты сравниваются с первыми группами животных. Под влиянием глутамата (группы 3) активность Mg^{2+} активируемой АТФ-азы повышается и составляет в митохондриях печени 100%, сердца - 70% и почек - 144% по сравнению с контрольной группой (группы 1,3, рис. 38-40). Особенно выражен нормализующий эффект глутамата на ДНФ-стимулирующую АТФ-азу. Активность этой АТФ-азы в митохондриях печени увеличивается под влиянием глутамата с 60 до 93% (рис. 41), а в митохондриях сердца - с 67 до 84% (рис. 42). Значительно большая разница между Mg^{2+} и ДНФ-стимулируемыми АТФ-азами наблюдается в митохондриях печени и сердца адаптированных к гипоксии животных, которые в течение 14 дней получали глутамат (табл. 29). В митохондриях коркового слоя почек, где после острой гипоксии аденозинтрифосфатазная активность была ингибиро-

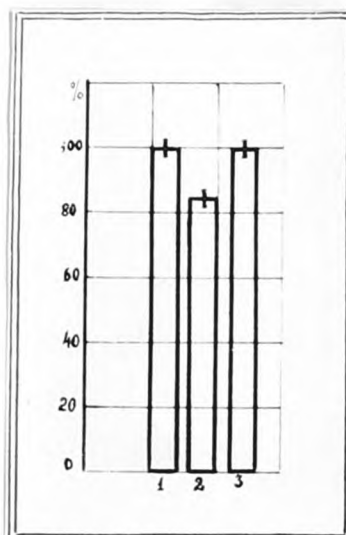


Рис. 38

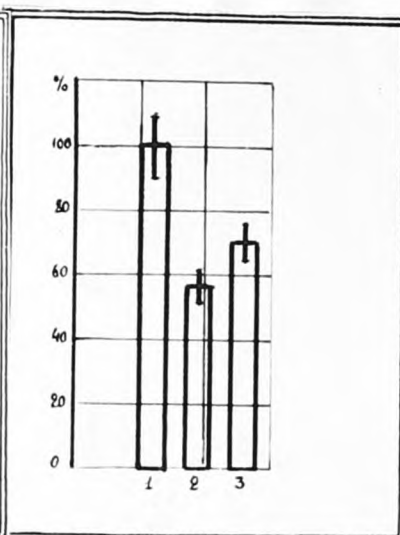


Рис. 39

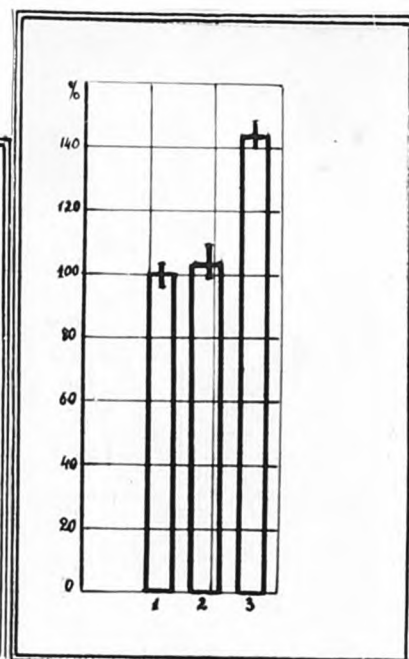


Рис. 40

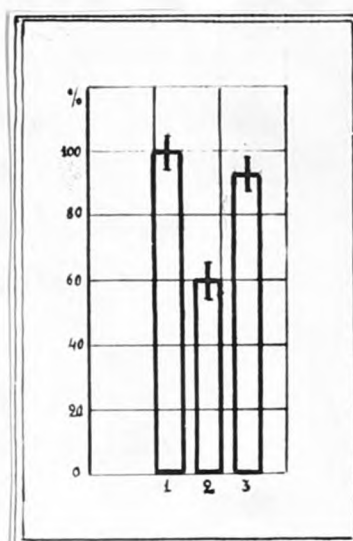


Рис. 41

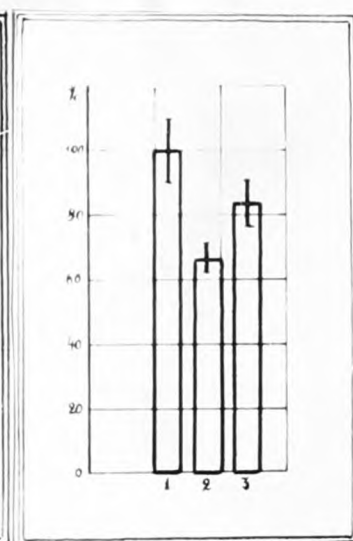


Рис. 42

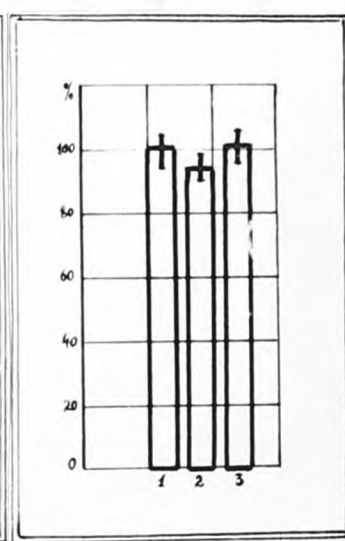


Рис. 43

Примечания: активность Mg^{2+} (рис. 38, 39, 40) и ДНФ (рис. 41, 42, 43) зависимых АТФ-аз в митохондриях печени (рис. 38, 41), сердца (рис. 39, 42) и почек (рис. 40, 43) при адаптации белых крыс к гипоксии. Норма, вводился физиологический раствор (1); гипоксия, вводился физиологический раствор (2) и глютамат натрия (3).

вана, при адаптации к гипоксии произошло восстановление активности этого фермента и глутамат оказался не эффективным (рис. 43, табл. 29).

Учитывая данные литературы о способности динитрофенола стимулировать АТФ-азу за счет фосфорилирующего пути окисления (С. Cooper и др., 1955; В. Chance, 1957; Е. М. Хватова и др., 1971), можно оценивать активирующее действие глутамата на ДНФ-стимулируемую АТФ-азу в митохондриях печени и сердца как способность этого препарата вызывать переключение свободного дыхания на фосфорилирующий путь окисления.

Результаты этой серии опытов свидетельствуют о том, что при адаптации к гипоксии митохондрии находятся в лабильно сопряженном состоянии, однако степень сопряженности в этих митохондриях выше, чем в опытах с острой гипоксией. Это указывает на то, что при адаптации к кислородному голоданию происходит частичное восстановление фосфорилирующего дыхания. Глутамат в условиях хронической гипоксии стимулирует фосфорилирующий путь окисления в митохондриях печени и сердца, усиливая естественную адаптивную реакцию организма к хроническому кислородному голоданию.

В литературе накопился значительный материал, свидетельствующий о гипоксическом действии кобальта на метаболические процессы в организме. Однако механизм гипоксического действия кобальта не совсем ясен. Поэтому следующая серия опытов посвящена исследованию действия кобальта на тканевое дыхание и активность ферментов в митохондриях печени. Необходимо было также выяснить, будет ли проявляться действие глутамата, вводимого одновременно с кобальтом, на функциональное состояние митохондрий, которое наблюдалось в опытах с гипоксической гипоксией.

7. ВЛИЯНИЕ КОБАЛЬТА И ГЛУТАМАТА НАТРИЯ НА ЭРИТРОПОЭЗ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ ^{х)}

Одним из самых мощных стимуляторов эритропоэза являются различные соединения кобальта. Стимулирующее действие его на гемопоэз было открыто в конце прошлого столетия (A. Pittini, V. Mossino, 1899). Механизму действия кобальта на эритропоэз посвящено большое количество работ, которыми убедительно показано активирующее действие этого соединения на кроветворение (S. Dorrance и соавт., 1943; L. Jacobson и соавт., 1948; H. Bucciario, J. Orten, 1948; H. Levy и соавт., 1950; I. Post, 1955; P. Corso, G. Vescovio, 1959; E. Stein, I. Lyle, 1961; A. A. Аббаров, 1962; P. П. Пулатов, И. К. Комилов, 1963; P. П. Пулатов, 1964; Л. И. Идельсон, Е. Д. Жуковская, 1965). Однако механизм усиления регенерации красной крови под действием кобальта еще далек от окончательного разрешения.

Широкое распространение получила концепция прогипоксического действия кобальта на эритропоэз. Ряд авторов полагал, что кобальт вызывает гипоксию и угнетение дыхания костного мозга и ретикулоцитов (A. G. Barron, E. S. Barron, 1937). Гипоксическое действие кобальта объяснялось способностью этого элемента вызывать спазм сосудов костного мозга (I. E. Devis, 1941), метгемоглобинообразование и нарушение транспорта кислорода (Назегави, 1957). Такое объяснение действия кобальта на эритропоэз вызвало ряд серьезных возражений, которые объяснить с позиций I. E. Devis и Назегави было невозможно. Известно, что для усиления регенераторных процессов потребность в энергии резко возрастает и что источником энергии для них являются анаэробные окислительные процессы (M. Swann, 1953; W. S. Bullough, E. V. Laurence, 1956; И. А. Аллов, 1964, 1966; В. М. Брессер, 1964).

^{х)} Опыты проведены совместно с А. П. Ястребовым и Е. И. Маевским.

Становилось непонятным, каким образом кобальт, вызывая гипоксию костного мозга, стимулирует эритропоэз?

Исследования непосредственного влияния кобальта на пролиферативные процессы в костном мозгу показали, что кобальт угнетает эритропоэз в кроветворной ткани (Frikken и соавт., 1961; А.П. Ястребов, 1965).

Основываясь на данных литературы и собственных исследованиях, Я.Г.Ужанский (1941, 1949, 1956) высказывал точку зрения, согласно которой гипоксия не оказывает непосредственного влияния на костный мозг, а стимулирует эритропоэз через другие органы и системы. В опытах Rosin и Rachmilewitch (1948), Magnussen (1949) показано, что если поместить культуру костного мозга в условия кислородного голодания, то происходит замедление развития костного мозга. Наоборот, легкая гипероксия способствует усиленному росту указанных клеток. Б.В.Аретинским в лаборатории Я.Г.Ужанского было установлено, что гипероксия способствует усилению регенерации крови при экспериментальных анемиях (Б.В.Аретинский, 1958, 1961, 1962). Следовательно, стимулирующее действие кобальта на костный мозг может реализоваться не прямым, а опосредованным путем.

Что касается действия кобальта на другие ткани, то имеются сведения о том, что кобальт вызывает блокаду окислительных систем клеток (J.M.Orten, M.C.Bucciago, 1948; I.Wesley, 1951), которая сопровождается гистотоксической гипоксией ряда органов и тканей организма (H.Levy и соавт., 1950; S.Greif, F.Wenning, 1951; H.Wolff, 1952; R.Kretschmer, A.Kretschmer, 1953; A.O.Войнер, 1960; I.W.Linman, G.H.Bethel, 1960). В более поздних исследованиях (А.П.Ястребов, 1965) показано, что кобальт угнетает дыхание и окислительное фосфорилирование в гомогенатах почек, печени и сердца, а также ингибирует окисление кетокислот в митохондриях печени (I.Dingle и соавт., 1962).

Резюмируя данные литературы, приведённые в этом разделе, следует подчеркнуть, что механизм ингибирующего действия кобальта на аэробные окислительные процессы изучен далеко не полностью.

В частности, в литературе имеются малочисленные разрозненные сведения о влиянии кобальта на комплекс ферментов цикла Кребса и дыхательной цепи митохондрий. Поэтому при выполнении данной серии опытов была поставлена задача: изучить изменения в активности важнейших ферментов тканевого дыхания и функционального состояния митохондрий печени под влиянием длительного введения кобальта в дозах, вызывающих стимуляцию эритропоэза в опытах на белых крысах. Объектом исследования были выбраны митохондрии печени в связи с тем, что митохондрии этого органа оказались наиболее чувствительны к гипоксическому действию кобальта. Так, согласно данным А.П.Ястребова (1965) кобальт угнетает тканевое дыхание в гомогенатах печени на 32%, а в гомогенатах сердца и почек — на 28 и 18% соответственно.

Представляло большой интерес также исследовать влияние глутаминовой кислоты на указанные процессы, поскольку глутамат оказывает стимулирующее влияние на тканевое дыхание при гипоксических состояниях.

Опыты выполнены на 25 белых крысах. Все животные были разделены на 3 группы:

- первая — контрольная (7 крыс),
- вторая — получавшая кобальт в дозе 0,3 мг на 100 г веса^{х)} (9 крыс),

и третья — группе вводили кобальт и глутамат в дозе 1 мг на 1 г веса (9 крыс). Кобальт и глутамат вводили подкожно один раз в сутки в течение 10 дней. У животных также определяли гематологические показатели: количество эритроцитов, ретикулоцитов и гемоглобина в крови.

^{х)} Кобальт в дозе 0,3 мг на 100 г веса максимально стимулирует эритропоэз (А.П.Ястребов, 1965).

Под влиянием длительного введения кобальта (табл. 30) происходит увеличение скорости дыхания в митохондриях печени (субстрат дыхания — сукцинат) без АДФ (V_4 до) на 37% и после полного фосфорилирования добавленного АДФ (V_4) на 30%. Кроме того, имеется отчетливое снижение коэффициента АДФ:О на 36% ($P=0,05$), не достоверное уменьшение дыхательного контроля по Чансу (ДКЧ) и Ларди (ДКЛ) и снижение скорости фосфорилирования АДФ в АТФ (V_{Φ}). Увеличение скоростей дыхания V_4 до и V_4 и уменьшение коэффициента АДФ:О свидетельствуют о том, что под действием кобальта происходит разобщение дыхания с фосфорилированием.

При введении кобальта совместно с глутаматом натрия выявлены сдвиги противоположного порядка (табл. 30, сравниваются группы 2 и 3). Скорость дыхания без АДФ и после полного фосфорилирования добавленного АДФ в АТФ при совместном введении кобальта и глутамата значительно ниже указанных показателей в митохондриях печени животных, получавших один кобальт. Так, скорость дыхания без АДФ (V_4 до) и после полного фосфорилирования добавленного АДФ (V_4) в митохондриях печени третьей группы по сравнению со второй группой составляет 52 и 49% соответственно. Однако наблюдается увеличение дыхательного контроля по Ларди (ДКЛ) и Чансу (ДКЧ) на 55%, возрастание коэффициента АДФ:О на 73% и скорости фосфорилирования на 31%.

Аналогичные сдвиги, но менее выраженные, в тканевом дыхании митохондрий печени обнаружены и при использовании в качестве субстрата дыхания глутамата натрия (табл. 31). Под действием кобальта выявляется стимуляция дыхания без АДФ на 30% и снижение дыхательного контроля по Ларди на 28% (группы I, 2). Уменьшение реакции митохондрий на введение кобальта, вероятно, обусловлено тем, что добавленный в инкубационную среду глутамат, как и в опытах *in vivo*, способен частично устранять изменения в метаболизме митохондрий, вызванные кобальтом.

Влияние длительного введения кобальта и глутамата на тканевое дыхание в митохондриях печени белых крыс (субстрат - сукцинат)

№ № групп	V_4 (до)	V_3	V_4	ДКЛ	ДКЧ	АДФ/О	V_{Φ}
1 (7)	20,89 $\pm$ $\pm 1,31$	59,93 $\pm$ $\pm 5,74$	39,46 $\pm$ $\pm 2,42$	2,90 $\pm$ $\pm 0,33$	1,70 $\pm$ $\pm 0,21$	1,36 $\pm$ $\pm 0,11$	89,43 $\pm$ $\pm 10,63$
2 (9)	28,75 $\pm$ $\pm 2,00$	64,76 $\pm$ $\pm 5,20$	51,38 $\pm$ $\pm 4,64$	2,27 $\pm$ $\pm 0,16$	1,35 $\pm$ $\pm 0,09$	1,10 $\pm$ $\pm 0,09$	77,17 $\pm$ $\pm 13,31$
%	137	108	130	78	79	64	86
P^X	<0,05	>0,5	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
3 (9)	14,98 $\pm$ $\pm 0,089$	53,49 $\pm$ $\pm 4,81$	25,17 $\pm$ $\pm 1,78$	3,52 $\pm$ $\pm 0,27$	2,10 $\pm$ $\pm 0,12$	1,91 $\pm$ $\pm 0,05$	101,44 $\pm$ $\pm 9,06$
%	52	82	49	155	155	173	131
P^{XX}	<0,01	<0,05	<0,001	<0,01	<0,01	<0,001	<0,05

Примечание: группа 1 - контроль, 2 - вводился кобальт, 3 - вводился кобальт и глутамат, P^X - при сравнении 1 и 2 групп, P^{XX} - 2 и 3 групп. В скобках указано количество опытов.

При совместном десятидневном введении кобальта и глутамата изменения в характере дыхания в митохондриях печени с использованием в качестве субстрата дыхания глутаминовой кислоты такие же, как и на сукцинате (табл. 31, группы 2 и 3). Снижается скорость дыхания без АДФ на 47% и V_4 - на 28%. Однако глутамат значительно повышает дыхательный контроль по Ларди (98%) и Чансу (31%), увеличивает коэффициент АДФ:О (29%) и скорость фосфорилирования АДФ в АТФ (23%).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что длительное введение кобальта в дозе 0,3 мг на 100 г веса вызывает переключение

Таблица 31

Влияние длительного введения кобальта и глутамата на тканевое дыхание в митохондриях печени белых крыс (субстрат - глутамат)

№ группы	V_4 (до)	V_3	V_4	ДКЛ	ДКЧ	АДФ/О	V_{Φ}
1 (7)	$14,24 \pm 1,34$	$23,35 \pm 3,72$	$23,99 \pm 1,26$	$2,06 \pm 0,14$	$1,38 \pm 0,05$	$1,79 \pm 0,11$	$60,15 \pm 6,84$
2 (9)	$18,60 \pm 1,09$	$26,92 \pm 2,97$	$21,79 \pm 2,10$	$1,48 \pm 0,16$	$1,43 \pm 0,06$	$1,84 \pm 0,17$	$55,69 \pm 3,18$
%	130	115	90	72	103	102	92
P^X	<0,05	>0,5	>0,5	<0,05	-	-	>0,5
3 (9)	$9,96 \pm 0,64$	$27,89 \pm 1,99$	$15,65 \pm 0,97$	$2,94 \pm 0,20$	$1,88 \pm 0,12$	$2,38 \pm 0,10$	$68,30 \pm 4,19$
%	53	103	72	148	131	129	123
P^{XX}	<0,01	-	<0,01	<0,001	<0,01	<0,05	<0,05

Примечание: группа 1 - контроль, 2 - вводился кобальт, 3 - вводился кобальт и глутамат, P^X - при сравнении 1 и 2 групп, P^{XX} - 2 и 3 групп.

фосфорилирующего дыхания на свободный путь окисления в митохондриях печени с использованием в качестве субстратов дыхания сукцината и глутамата.

Глутаминовая кислота, вводимая параллельно с кобальтом, устраняет разобщающее действие кобальта и стимулирует фосфорилирующее дыхание. Последнее положение основывается на том, что под действием глутамата происходит снижение скоростей дыхания митохондрий печени без АДФ и в четвертом метаболическом состоянии, увеличение дыхательного контроля, коэффициента АДФ:О и скорости фосфорилирования АДФ в АТФ. Стимуляция реакции превращения АДФ в АТФ свидетель-

ствует о том, что глутамат увеличивает синтез АТФ и улучшает энергетический обмен в печени.

Способность глутамата стимулировать фосфорилирующее окисление в разобщенных митохондриях была нами обнаружена в экспериментах на адреналэктомированных животных (Н.А.Глотов, 1966, 1967). Из литературы известно, что АТФ вызывает сокращение митохондрий и в ряде случаев устраняет разобщение, вызванное энергетическим дефицитом (Е.Куфф, В.Шнейдер, 1957; А.Ленинджер, 1962, 1964; А.Л.Шабадаш, 1966; Н.К.Монахов, 1966; В.Ф.Машанский и др., 1971). Поэтому мы полагаем, что глутамат, стимулируя фосфорилирующее дыхание и увеличивая синтез АТФ, способствует уменьшению энергетического дефицита в митохондриях, вызванного разобщающим действием кобальта. Увеличение эндогенного АТФ вызывает сокращение митохондрий (Т.Б.Казакова, 1965; С.А.Нейфак, 1964) и переключение свободного дыхания на фосфорилирующее окисление (В.П.Скулачев, 1962; Н.Р.Чаговец, 1971).

Для более детального изучения механизма действия кобальта определялась активность ряда ферментов в митохондриях печени: сукцинат - глутамат - малат - дегидрогеназ, НАДН:цитохром С -редуктазы и цитохром С - оксидазы. При этом было установлено (табл.32), что инъекции кобальта (в дозе 0,3 мг на 100 г веса один раз в сутки в течение 10 дней) сопровождаются угнетением активности цитохром С - оксидазы в митохондриях печени на 31% и ГДГ - на 23%. В противоположность указанным ферментам активность НАДН-дегидрогеназного комплекса стимулируется на 25% и имеется тенденция к увеличению активности сукцинатдегидрогеназы. Снижение цитохром С-оксидазной активности, вероятно, и обуславливает тканевую гипоксию, вызванную введением кобальта в организм.

В литературе широко распространено мнение о том, что гипоксическое действие кобальта обусловлено его повреждающим действием на окислительные механизмы клетки (J.M.Crten, M.C.Buccierno,

Таблица 32

Активность ферментов в митохондриях печени
при длительном введении кобальта и глутамата
(ΔE на 1 мг белка митохондрий в 1 мин)

Название фермента	Группы животных						
	Конт-рольная	Введение кобальта			Введение кобальта и глутамата		
		$M \pm m$	$M \pm m$	% ^X	P	$M \pm m$	% ^{XX}
СДГ	0,219 $\pm$ 0,015 (8)	0,235 $\pm$ 0,018 (11)	107	>0,5	0,409 $\pm$ 0,060 (7)	174	<0,01
ГДГ	0,275 $\pm$ 0,025 (9)	0,240 $\pm$ 0,012 (10)	87	<0,05	0,243 $\pm$ 0,011 (8)	101	
МДГ	0,406 $\pm$ 0,009 (11)	0,392 $\pm$ 0,005 (10)	96	>0,5	0,478 $\pm$ 0,004 (7)	121	<0,01
НАДН:ци- тохром С- редуктаза	0,572 $\pm$ 0,021 (10)	0,731 $\pm$ 0,023 (11)	125	<0,01	0,720 $\pm$ 0,024 (8)	98	>0,5
Цито- хром С-ок- сидаза	0,426 $\pm$ 0,026 (10)	0,294 $\pm$ 0,026 (9)	69	<0,01	0,391 $\pm$ 0,045 (7)	133	<0,05

Примечание: %^X - сравнение с контрольной группой, %^{XX} - сравнение с группой животных, получавших кобальт. В скобках указано количество опытов.

1948; J. Wesley, 1951; I. Morgan, R. Parker, 1952; Ф.Я. Берштейн, М.М. Кичина, 1960; M. Daniel и соавт., 1963). Кобальт легко реагирует с SH группами ферментов (D. Frost и соавт., 1941; D. Burk и соавт., 1946; A. Barron и соавт., 1937; H. Bussiere, J. Orten, 1948; T. Dalham, 1953), вызывая ингибирование цитохромоксидазы и других ферментов, содержащих тиоловые группы (H. Levy и соавт., 1950).

Что касается увеличения активности НАДН-дегидрогеназного комплекса при длительном введении кобальта, то оно, вероятно, обусловлено тем, что этот препарат, вызывая стимуляцию эритропоэза, активизирует также реакции, обеспечивающие водородом синтетические процессы экстрамедуллярных очагов кроветворения печени (А.П.Ястребов, 1965).

Инъекции глутамата натрия крысам (препарат вводился по 1 мг на 1 г веса, один раз в сутки, 10 дней совместно с кобальтом) сопровождаются сильной стимуляцией активности сукцинатдегидрогеназного комплекса (74%) и менее выраженным увеличением активности МДГ (21%) и цитохромоксидазы (33%) в митохондриях печени (табл. 32).

Увеличение активности цитохромоксидазы при совместном введении крысам глутамата и кобальта, по-видимому, является следствием того, что кобальт, обладая высоким сродством с карбоксильными группами (L.Weissbecker, 1950), легко вступает во взаимодействие с глутаматом и частично связывается этой аминокислотой. В свою очередь, уменьшение свободного кобальта должно сопровождаться частичным устранением его ингибирующего влияния на активность цитохромоксидазы.

Стимуляция глутаматом активности сукцинатоксидазного комплекса и малатдегидрогеназы должна оказывать благоприятное воздействие на эритропоэз на фоне кобальтовой полицитемии, поскольку сукцинат является хорошим источником энергии при усиленных функциональных нагрузках (М.Н.Кондрашова, 1971).

При исследовании влияния глутамата на гематологические показатели в условиях кобальтовой полицитемии и хронической гипоксии оказалось, что длительное введение глутаминовой кислоты способствует стимуляции эритропоэза у подопытных животных (табл. 33).

Таблица 33

Гематологические показатели у крыс после хронической гипоксии, введения кобальта и глутамата натрия

Показатели	в % к исходному уровню							
	Кобальт	Р ^х	Ко- бальт+ глута- мат	Р ^{хх}	Гипок- сия	Р ^х	Гипок- сия + глута- мат	Р ^{хх}
Эритроциты	+14,0	<0,01	+13,0	>0,1	+13,3	<0,01	+15,7	>0,1
Гемоглобин	+11,0	<0,01	+10,0	>0,1	+24,3	<0,01	+30,8	>0,1
Ретикуло- циты	+254,0	<0,001	+277,0	>0,1	+240,7	<0,001	+339,5	<0,05

Примечание: Р^х — сравниваются с исходными показателями, Р^{хх} — сравниваются группы животных, получавших кобальт+глутамат, а также показатели гипоксических животных без глутамата и с глутаматом. Приведены средние данные из 9 опытов.

Под действием кобальта количество ретикулоцитов увеличивается на 254%, а при совместном введении кобальта и глутамата оно составляет 277% по отношению к исходному уровню. Наиболее выраженное стимулирующее влияние глутамата на эритропоэз выявлено на фоне хронической гипоксии. Так, если количество ретикулоцитов у гипоксических животных превышает исходный уровень на 240,7%, то глутаминовая кислота при хроническом кислородном голодании увеличивает количество указанных элементов крови на 339,5%. Это почти на 100% выше, чем у гипоксических животных, не получавших глутамат натрия.

В литературе имеются указания на то, что глутаминовая кислота оказывает благоприятное влияние на эритропоэз при различных заболеваниях и некоторых анемиях (И.Г.Беспалов и соавт., 1956, 1957; М.С.Вол-

ков, 1963).

Механизм стимулирующего действия глутамата на эритропоэз при хронической и кобальтовой гипоксиях пока нельзя полностью объяснить. Вероятнее всего, усиление регенерации красной крови при длительном введении глутаминовой кислоты обусловлено непосредственным включением этого соединения в структурные компоненты гемоглобина. Как показано А.М.Чарным (1961), глутаминовая кислота в больших количествах содержится в белковой части гемоглобина. Кроме того, глутамат является источником образования важнейших предшественников синтеза гема-гликозола, янтарной, α -кетоглутаровой и фумаровой кислот (Л.И.Идельсон, 1968; И.А.Кассирский, Г.А.Алексеев, 1970; М.Н.Кондрашова, 1971; С.И.Рябов, 1971).

Полученные нами данные о способности глутамата усиливать эритропоэз при кобальтовой полицитемии и хронической гипоксии позволяют рекомендовать шире использовать глутаминовую кислоту в тех случаях, когда необходимо стимулировать эритроциты.

Резюмируя изложенное в этом разделе, следует отметить, что длительное введение кобальта сопровождается разобщением дыхания и окислительного фосфорилирования, ингибированием активности цитохром С-оксидазы и стимуляцией НАДН-дегидрогеназного комплекса в митохондриях печени белых крыс. Глутамат смягчает действие кобальта на тканевые окислительные процессы, вызывает переключение свободного дыхания на фосфорилирующее, увеличение коэффициента АДФ:О₂, скорости фосфорилирования АДФ в АТФ и стимуляцию цитохромоксидазной и малат-дегидрогеназной активности в гранулах печени. Выявлено также благотворное действие глутаминовой кислоты на эритропоэз при хронической гипоксии и кобальтовой полицитемии.

Г л а в а V

СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ КИСЛОТ ЦИКЛА КРЕБСАВ КРОВИ, ПЕЧЕНИ, СЕРДЦЕ И ПОЧКАХ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ГИПОКСИИ И
ПРИ ВВЕДЕНИИ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

Один из важнейших регуляторных механизмов реакций тканевого дыхания тесно связан с концентрацией эндогенных макроэргов, точнее с соотношением АТФ:АДФ. АДФ является активатором, а АТФ - ингибитором аэробных окислительных процессов (B.Chance, B.Williams, 1955; В.П.Скулачев, 1962, 1969; Н.Р.Чаговец, 1972). Энергетический тип регуляции фактически контролирует "отток" электронов, выделяющихся при окислении различных субстратов в цикле Кребса. При низкоэнергетическом сдвиге в метаболическом состоянии митохондрий широко открывается путь для транспорта электронов с окисляющихся субстратов на кислород. При такой ситуации довольно быстро истощается субстратный фонд с последующим снижением дыхательной и фосфорилирующей активности митохондрий (E.C. Weinbach, 1961; B.Bellamy, 1961; R.von Korff, 1965, 1967a). Защитным механизмом, препятствующим истощению субстратного фонда, является переключение с энергетического типа регуляции на субстратный. Важнейшим звеном в субстратном типе регуляции являются концентрационные взаимоотношения сукцината и ПУК, которые регулируют активность СДГ. Павеловоуксусное торможение СДГ служит защитной мерой против истощения эндогенных субстратов митохондрий (V.Kane, Z.Wojtczak, 1966; А.Д.Виноградов, И.Г.Кондрашов, 1968; А.В.Войтцзак, 1968, 1969; И.Н.Кондрашова, 1969, 1970, 1971).

Известно, что в условиях гипоксии имеется резкий энергетический дефицит (D.V.Таррап и соавт., 1957; Е.Н.Домонтович, 1958;

К.Г.Громова, 1960; А.М.Куликова, 1966; Т.Н.Протодьяконова, 1969) и на первый план выдвигается субстратный тип регуляции окислительных процессов в митохондриях (М.Н.Кондрашова, 1971). Однако изменению субстратного спектра карбоновых кислот в тканях при гипоксии почти не уделялось внимания. Имеются единичные работы (М.Н.Кондрашова, 1971; Е.И.Маевский, 1971), посвященные определению янтарной кислоты при некоторых формах гипоксии. Совсем не изучено влияние глутаминовой кислоты на содержание кислот цикла Кребса при гипоксии, хотя обмен этой аминокислоты имеет тесную связь с важнейшими метаболитами лимоннокислого цикла.

Настоящая глава посвящена исследованию влияния гипоксии и глутамата натрия на содержание пировиноградной (ПВК), α -кетоглутаровой (α -КГл), щавелевоуксусной (ЩУК) и янтарной (ЯК) кислот в печени, сердце, почках и крови белых крыс.

1. СОДЕРЖАНИЕ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ В КРОВИ, ПЕЧЕНИ, СЕРДЦЕ И ПОЧКАХ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ГИПОКСИИ И ВВЕДЕНИИ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

При острой гипоксии в крови не происходит изменения в концентрации янтарной кислоты (табл. 34). Не оказывает влияния на количество сукцината в крови и глутамат натрия как в нормальных условиях опытов, так и при недостатке кислорода в организме.

Выраженные изменения в содержании янтарной кислоты при острой гипоксии выявляются в печени (табл. 34). Если в контроле концентрация сукцината в печени составляет 7,77 мм, то после пребывания крыс на "высоте" 8000 м в течение 1 часа количество янтарной кислоты увеличивается на 18% и равно 9,21 мм. Предварительные инъекции глутамата перед помещением крыс в барокамеру сопровождаются еще большим увеличением янтарной кислоты в печени (табл. 34, группы 3 и 4). Этот дополнительный прирост составляет 15%. В нормальных усло-

Таблица 34

Влияние острой гипоксии и глутамата натрия на содержание
янтарной кислоты в крови и печени белых крыс
(в мкм на 1 г сырой ткани)

№	К р о в ь				П е ч е н ь			
	Н о р м а		Гипоксия		Н о р м а		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	1,80	1,43	1,20	1,69	6,05	12,93	9,60	12,50
2	0,98	1,17	1,20	1,69	10,43	13,91	9,60	13,40
3	1,95	2,64	0,72	1,00	6,09	9,47	7,05	9,28
4	1,95	1,98	0,71	1,00	6,35	9,07	7,22	8,74
5	1,59	1,08	1,97	1,32	8,16	8,47	8,55	10,08
6	1,38	1,00	1,32	1,22	8,01	8,32	8,55	10,08
7	1,38	1,20	1,22	1,50	8,23	6,32	7,90	9,49
8	1,08	1,12	1,18	1,55	8,22	6,05	8,60	10,08
9	1,20	-	1,03	1,70	9,86	10,58	10,25	11,34
10	1,20	-	2,06	1,55	10,01	10,92	10,08	11,39
11	-	-	1,97	-	8,15	7,22	9,24	-
12	-	-	-	-	7,98	7,39	9,49	-
13	-	-	-	-	6,32	6,73	11,44	-
14	-	-	-	-	6,05	6,43	11,39	-
15	-	-	-	-	7,79	8,12	-	-
16	-	-	-	-	7,89	8,51	-	-
17	-	-	-	-	7,39	-	-	-
18	-	-	-	-	7,56	-	-	-
19	-	-	-	-	6,93	-	-	-
20	-	-	-	-	6,73	-	-	-
21	-	-	-	-	8,30	-	-	-
22	-	-	-	-	7,52	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-
M±	1,45	1,45	1,32	1,42	7,77	8,77	9,21	10,64
±m	0,11	±0,20	±0,04	±0,08	±0,12	±0,24	±0,36	±0,46
%	100	100	91 ^X	107 ^{XX}	100	112	118	115 ^{XX}
P	-	-	>0,5	>0,5	-	>0,05	<0,05	<0,05

Примечания: 1, 3 - вводился физиологический раствор; 2, 4 - вводился глутамат натрия; %^X - сравниваются с группами 1; %^{XX} - сравниваются 3 и 4 группы.

Таблица 35

Влияние острой гипоксии и глутамата натрия на содержание
янтарной кислоты в сердце и почках белых крыс
(в мкм на 1 г сырой ткани)

№№	С е р д ц е				П о ч к и			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	I	2	3	4	I	2	3	4
I	5,23	5,80	4,22	4,24	4,60	5,20	5,60	5,20
2	5,01	5,79	4,99	4,24	5,28	5,00	5,40	5,00
3	6,48	6,48	5,29	6,44	5,28	5,28	4,03	2,52
4	6,48	6,48	5,26	6,22	5,10	5,00	4,20	2,52
5	5,46	9,00	5,29	6,48	5,08	4,00	4,91	3,78
6	4,86	8,88	5,68	6,66	4,93	3,86	4,37	3,36
7	6,73	4,12	7,95	6,16	4,73	2,52	4,54	4,37
8	6,93	4,20	7,76	5,72	4,19	2,35	4,54	4,54
9	5,54	5,92	6,78	-	3,70	3,36	7,39	5,54
10	5,46	5,92	5,18	-	3,53	3,19	7,35	5,54
11	6,38	4,01	-	-	4,03	2,62	6,72	6,21
12	6,72	3,79	-	-	3,95	2,52	6,55	6,21
13	5,35	-	-	-	5,71	2,69	7,22	5,29
14	5,13	-	-	-	5,88	2,69	6,72	5,38
15	-	-	-	-	3,86	-	-	-
16	-	-	-	-	3,86	-	-	-
M±	5,83	5,86	5,84	5,77	4,60	3,54	5,68	4,67
±m	±0,19	±0,20	±0,40	±0,30	±0,18	±0,21	±0,30	±0,32
%	100	100	100 ^X	98 ^{XX}	100	78 ^X	123 ^X	82 ^{XX}
P	-	-	-	-	-	<0,02	<0,01	<0,05

Примечания: I, 3 - вводился физиологический раствор; 2, 4 - вводился глутамат натрия; %^X - сравниваются в группах
%^{XX} - сравниваются 2 и 4 группы.

виях глутамат не оказывает существенного влияния на содержание сукцината в печени.

В таблице 35 представлены результаты определения янтарной кислоты в сердечной мышце и почках при острой гипоксии и под влиянием глутамата натрия. Острая гипоксия не влияет на содержание янтарной кислоты в сердечной мышце. Нет изменений в концентрации сукцината и после введения глутаминовой кислоты как в нормальных условиях опытов, так и при гипоксии.

Почки более чувствительны к воздействию гипоксии (табл. 35). Так, после 60-минутного пребывания крыс в барокамере в ткани почек определяется повышенное количество янтарной кислоты. Если в контроле (группа I) в почках сукцината содержится 4,60 мкм, то у гипоксических животных — 5,68 мкм (группа 3) на 1 г сырого веса.

Однократные инъекции глутамата сопровождаются снижением содержания янтарной кислоты в ткани почки в норме через 1 час после введения на 23% (группы I и 2), а после 60-минутной гипоксии — на 18% (группы 3 и 4). Таким образом, наблюдаются реципрокные взаимоотношения в изменении концентрации сукцината при воздействии острой гипоксии и глутамата.

Определение янтарной кислоты после адаптации белых крыс к гипоксии в течение двух недель по 6 часов в день на "высоте" 6000 м показало, что содержание сукцината в печени и сердце снижается (табл. 36). Количество янтарной кислоты в контроле равно 7,77 мкм (группа I), а у тренированных к гипоксии животных оно составляет 6,78 мкм (группа 2). При этом содержание сукцината снижается на 13%. Более выраженные сдвиги обнаружены в сердечной мышце. Под действием хронической гипоксии количество янтарной кислоты в миокарде уменьшается на 38% (группы I, 2).

В процессе тренировки к гипоксии ежедневные введения глутамата

Влияние хронической гипоксии и глутамата натрия
на содержание янтарной кислоты в печени, сердце и почках
белых крыс (в мкм на 1 г сырого веса)

№№	Печень			Сердце			Почки		
	Норма	Гипоксия		Норма	Гипоксия		Норма	Гипоксия	
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	6,05	5,38	5,30	5,23	3,84	2,88	4,60	4,80	3,84
2	10,43	4,24	5,30	5,01	4,90	3,00	5,28	7,86	3,84
3	6,09	5,22	7,24	6,48	4,85	3,84	5,28	4,18	5,70
4	6,35	5,22	7,80	6,48	4,95	5,01	5,10	4,18	5,85
5	8,16	5,59	4,80	5,46	5,00	4,85	5,08	5,70	4,29
6	8,01	5,79	4,59	4,83	3,26	2,35	4,93	5,85	4,60
7	8,23	7,14	7,32	6,73	3,26	2,40	4,73	5,93	5,35
8	8,22	7,25	8,10	6,93	2,03	2,41	4,19	5,32	5,03
9	9,86	7,97	9,00	5,54	2,00	2,40	3,70	6,34	5,84
10	10,01	7,36	8,70	5,46	2,35	2,97	3,53	6,74	5,84
11	8,15	7,80	8,62	6,38	2,35	2,60	4,03	6,26	5,78
12	7,98	7,72	9,23	6,72	4,20	4,30	3,95	6,00	5,78
13	6,32	8,97	8,35	5,35	3,95	4,20	5,71	6,00	-
14	6,05	9,37	8,77	5,13	-	-	5,88	6,00	-
15	7,79	-	-	-	-	-	3,86	-	-
16	7,89	-	-	-	-	-	3,86	-	-
17	7,39	-	-	-	-	-	-	-	-
18	7,56	-	-	-	-	-	-	-	-
19	6,93	-	-	-	-	-	-	-	-
20	6,73	-	-	-	-	-	-	-	-
21	8,30	-	-	-	-	-	-	-	-
22	7,52	-	-	-	-	-	-	-	-
M±	7,77	6,78	7,36	5,83	3,61	3,32	4,60	5,77	5,14
±m	±0,12	±0,34	±0,35	±0,19	±0,30	±0,25	±0,18	±0,21	±0,23
%		87 ^X	108 ^{XX}	100	62 ^X	91 ^{XX}	100	125 ^X	89 ^{XX}
P		<0,05	>0,05		<0,01	>0,05		<0,05	-0,05

Примечания: 1, 2 - вводился физиологический раствор, 3 - вводился глутамат натрия; %^X - сравниваются с группами 1, %^{XX} - сравниваются группы 2 и 3.

натрия в дозе 1 мг на 1 г веса (препарат вводился через зонд в желудок в течение 14 дней) не влияет на концентрацию янтарной кислоты в печени и сердечной мышце. Однако, как и при острой гипоксии, глутамат уменьшает содержание сукцината в почках (табл. 36, группы 2 и 3).

Обмен янтарной кислоты в митохондриях играет очень важную роль в адаптации организма к воздействиям различной природы, в том числе и к гипоксии (М.Н.Кондрашова, 1969; В.В.Фролькис и соавт., 1972). В условиях острой гипоксии, когда окисление НАД-зависимых дегидрогеназ затруднено (Н.Д.Ещенко и соавт., 1969), янтарная кислота может служить основным источником энергии в организме (И.Ф.Матюшин и соавт., 1972; Р.А.Фролькис, 1972). Следует отметить, что изменения концентрации сукцината в разных органах не одинаковы. Наибольшие сдвиги в содержании янтарной кислоты наблюдаются в печени и почках. Если при острой гипоксии происходит увеличение янтарной кислоты (табл. 34, рис. 45), то при адаптации крыс к гипоксии выявляется уменьшение этой кислоты в ткани печени (табл. 36, рис. 48). В почках как при острой (табл. 35, рис. 47), так и при хронической (табл. 36, рис. 50) гипоксии обнаружено повышение количества янтарной кислоты на 25%. В сердечной мышце после острой гипоксии не обнаружено каких-либо изменений в концентрации янтарной кислоты (табл. 35, рис. 46), однако у адаптированных к гипоксии животных (табл. 36, рис. 49) в миокарде определяются меньшие количества сукцината.

Обращает на себя внимание различное количественное содержание янтарной кислоты в исследуемых органах (табл. 34, 35, группы I). В крови янтарной кислоты в среднем содержится 1,45 мкм на 1 мл, в то время как в почках, сердце и печени ее концентрация колеблется от 4,60 до 7,77 мкм на 1 г ткани. Следовательно, в почках, сердце и печени концентрация сукцината в 3,1 - 5,3 раза больше, чем в крови.

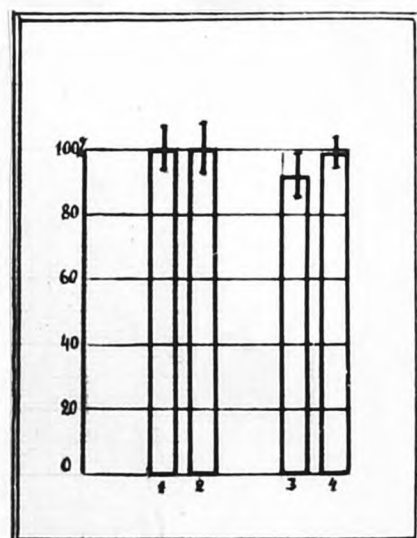


Рис. 44

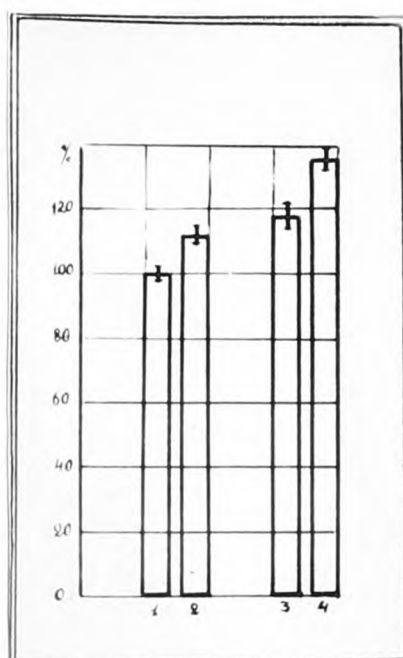


Рис. 45

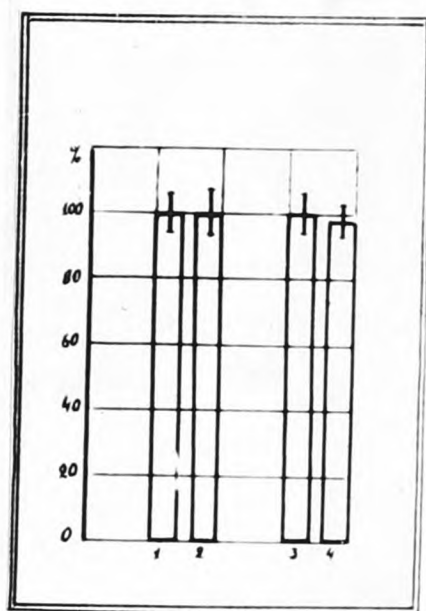


Рис. 46

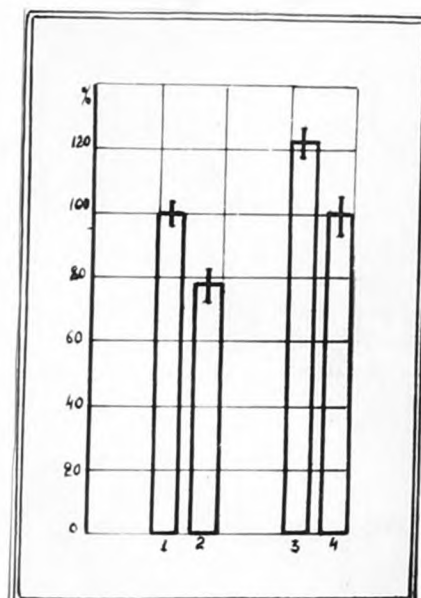


Рис. 47

Концентрация янтарной кислоты в крови (рис. 44), печени (рис. 45), сердце (рис. 46) и почках (рис. 47). Норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2); острая гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4) (в % к группам I).

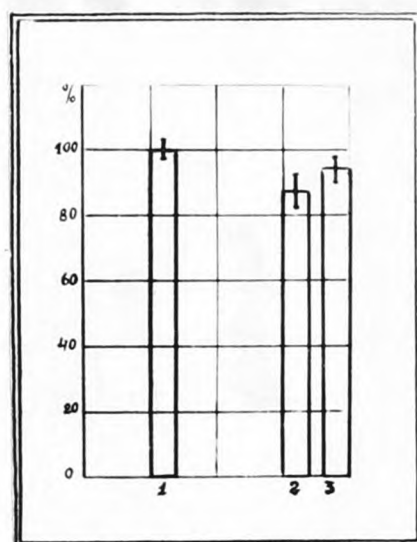


Рис. 48

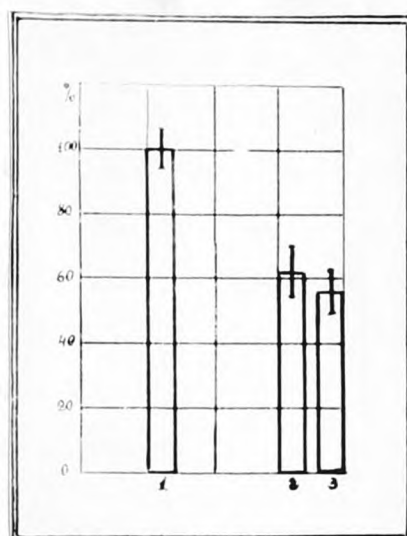


Рис. 49

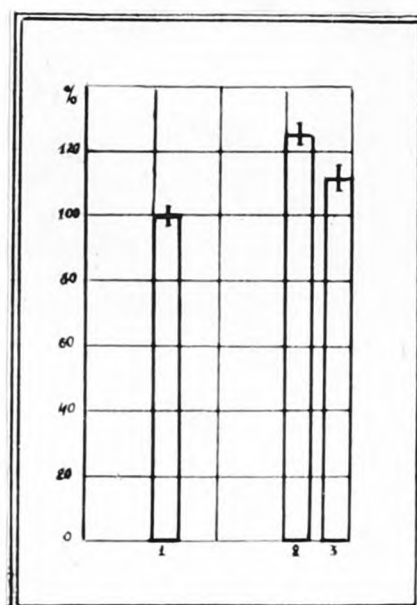


Рис. 50

Концентрация янтарной кислоты в печени (рис. 48), сердце (рис. 49) и почках (рис. 50) у адаптированных к гипоксии животных. Норма, вводился физиологический раствор (1); гипоксия, вводился физиологический раствор (2) и глутамат натрия (3) (в % к группам 1).

Такая разница в концентрации янтарной кислоты, по-видимому, обусловлена тем, что основным местом ее образования являются митохондрии.

В настоящее время известно более 10 различных путей синтеза янтарной кислоты в митохондриях тканей организма (М.Н.Кондрашова, 1971). Особенно важное значение имеет новообразование янтарной кислоты при снижении парциального давления кислорода в тканях. Синтез янтарной кислоты при гипоксии может происходить главным образом из продуктов расщепления жирных кислот в гликоксилатном цикле (М.Н.Кондрашова, М.А.Родионова, 1971), а также при обращении цикла Кребса и восстановлении щавелевоуксусной кислоты (H.D.Hoberman, Z.Prosky, 1967; R.W.von Korff, 1967; М.Н.Кондрашова, 1968, 1969б) и в меньшей степени за счет реализации прямых реакций цикла Кребса.

Наиболее важный механизм синтеза янтарной кислоты связан с превращениями различных метаболитов жирных кислот в сукцинат. При гипоксии, как и при других стрессовых воздействиях, происходит усиленное окисление жиров (Б.Н.Копытин, 1952; Е.К.Четверикова, 1962; Е.К.Четверикова, М.И.Петухов, 1962; К.М.Хритинина и соавт., 1966; Л.П.Аксенова, 1967; Л.Н.Симановский и соавт., 1970). Важнейшими продуктами расщепления жиров являются ацетил-КоА, пропионил-КоА и продукты их карбоксилирования — малонил-КоА и метил-малонил-КоА, из которых в больших количествах может синтезироваться янтарная кислота (D.Green и соавт., 1953; М.Н.Кондрашова, 1971). Накопление ацетил-КоА при гипоксии приводит к ингибированию активности пируват-дегидрогеназы, стимуляции пируваткарбоксилазной реакции и усилению образования ЦУК (W.R.Mc.Clure, H.A.Lardy, 1971). Последняя при избытке НАДН легко превращается в янтарную кислоту.

Таким образом, увеличение количества янтарной кислоты при острой гипоксии в печени и почках, а также в почках при хроническом

кислородном голодании обусловлено, главным образом, синтезом ее из продуктов расщепления жиров, восстановления ЦУК и, возможно, при реализации глиоксилатного цикла.

Отсутствие изменений в содержании янтарной кислоты в миокарде при острой гипоксии свидетельствует о том, что в сердечной мышце наряду с углеводами успешно могут окисляться и жиры. Самая высокая артерио-венозная разница по отношению к жирным кислотам наблюдается после прохождения крови через сердечную мышцу (R.J.Bing : 1954; Р.Д.Бинг и соавт., 1959; M.Gold J.J.Spitzer , 1964; М.Д.Гроздова, 1967). Усиление окисления жирных кислот и ацетоновых тел в миокарде при гипоксии (Е.К.Четверикова, 1962) препятствует накоплению недоокисленных продуктов обмена жирных кислот, которые являются источником синтеза сукцината. Указанное свидетельствует также о том, что в условиях гипоксии сердце, по-видимому, испытывает меньший дефицит кислорода, чем печень и почки, что способствует более полному окислению жирных кислот в этом органе.

При адаптации к гипоксии происходит стимуляция липолитических ферментов и окисления жирных кислот в печени до углекислого газа и воды (Е.К.Четверикова, 1962; Е.А.Яценко, 1971). В связи с тем, что недоокисленные продукты жирных кислот являются основными источниками для синтеза сукцината (М.Н.Кондрашова, 1971), снижение их концентрации может сопровождаться уменьшением образования янтарной кислоты. Не менее важным фактором, который может привести к снижению содержания янтарной кислоты, является снятие щавелевоуксусного ингибирования СДГ при длительной гипоксии и усиление окисления янтарной кислоты.

Увеличение количества янтарной кислоты в печени при острой гипоксии под влиянием глутамата, вероятно, происходит за счет превращения глутаминовой кислоты в янтарную в глутаматдегидрогеназной

реакции. На это указывает также стимулирующее действие глутамата на активность ГДГ в митохондриях печени при гипоксии (табл. 9). Глутамат при декарбоксилировании через γ -аминомасляную кислоту и янтарный полуальдегид превращается в янтарную кислоту. Реализация глутаматдекарбоксилазной реакции может происходить не только в мозгу, но и в других органах, так как декарбоксилирование глутамата может осуществляться всеми изоферментами лактатдегидрогеназы (W.N.Fischbein и соавт., 1964).

В отличие от печени, в почках глутаминовая кислота приводит к снижению концентрации янтарной кислоты как при острой (рис. 47), так и при хронической гипоксии (рис. 50). Снижение сукцината в почках, вероятно, обусловлено стимулирующим влиянием глутаминовой кислоты на активность сукцинатдегидрогеназы (табл. 8, рис. 9).

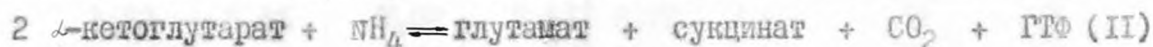
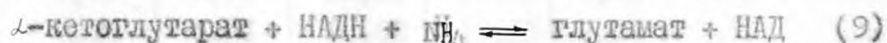
Таким образом, после пребывания животных на "высоте" 8000 м в течение 1 часа происходит увеличение концентрации янтарной кислоты в печени и почках. У адаптированных к гипоксии животных количество сукцината в почках остается повышенным, однако содержание его в печени и миокарде снижается. Глутамат натрия в условиях острой гипоксии увеличивает количество янтарной кислоты в печени и уменьшает его концентрацию в почках, а у адаптированных к низкому парциальному давлению кислорода крыс — в сердце и почках. Показано также отсутствие корреляции между количеством янтарной кислоты в крови и органах. Концентрация сукцината в органах в 3,1 — 5,3 раза выше, чем в крови.

Одним из источников образования янтарной кислоты является

α -кетоглутарат. Обмен указанных кислот тесно связан с метаболизмом глутаминовой кислотой. Поэтому следующий раздел данной работы посвящен анализу результатов по влиянию гипоксии и глутамата на концентрацию α -кетоглутаровой кислоты в тканях белых крыс.

2. СОДЕРЖАНИЕ α -КЕТОГЛУТАРОВОЙ КИСЛОТЫ В КРОВИ, ПЕЧЕНИ, СЕРДЦЕ И ПОЧКАХ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ГИПОКСИИ И ПОД ВЛИЯНИЕМ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ

Интерес к обмену α -кетоглутаровой кислоты обусловлен тем, что это соединение является одним из основных связующих звеньев между обменом белков и углеводов. Наиболее легко реакции переаминирования идут с α -кетоглутаратом (А.Е.Браунштейн, 1949; P.Borst, 1962), при этом образуется глутаминовая кислота. Синтез глутамата может происходить также в реакции восстановительного аминирования. По данным Н.А.Krebs, P.P.Cohen (1939), восстановительное аминирование в условиях гипоксии выполняет функцию акцептора водорода. Продуктами данной реакции являются глутамат, сукцинат и ГТФ.



Краткий перечень основных метаболических превращений показывает, что обмен α -кетоглутарата осуществляется в тесной связи с глутаматом и сукцинатом. Поэтому полагаем, что количественное определение α -кетоглутаровой кислоты позволит глубже понять перестройку в обменных процессах в тканях при гипоксии и под влиянием глутамата.

После пребывания крыс в барокамере в течение 60 мин на "высоте" 8000 м концентрация α -кетоглутарата в крови резко увеличивается и составляет 237% по отношению к контролю (табл. 37). Подобные, но менее выраженные сдвиги в содержании α -кетоглутарата выявлены в печени и почках (табл. 37, 38). В тканях печени концентрация α -КГЛ увеличивается на 52%, а в почках — на 54% (группы I и 3). Однако в сердечной мышце острая гипоксия вызывает некоторое снижение α -кетоглутарата (на 19% $p > 0,05$, табл. 38).

Таблица 37

Влияние острой гипоксии и глутамата натрия на содержание
 α -кетоглутаровой кислоты в крови и печени белых крыс
 (в мм на 100 г ткани)

№№	К р о в ь				П е ч е н ь			
	Н о р м а		Гипоксия		Н о р м а		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	3,04	5,07	13,84	16,82	1,70	2,00	2,41	3,57
2	3,69	6,19	14,61	16,25	1,89	2,73	2,51	5,10
3	3,83	6,32	12,08	12,34	1,40	2,54	3,09	3,60
4	4,43	6,32	11,56	12,34	1,60	2,54	3,24	3,24
5	4,99	5,17	8,23	10,22	2,79	3,12	3,54	3,14
6	4,43	5,36	10,03	10,03	1,82	3,12	3,35	5,10
7	4,06	4,06	10,00	15,15	2,00	2,36	3,97	4,73
8	2,82	3,51	6,56	9,38	2,16	2,36	3,43	3,97
9	3,69	4,90	6,75	10,32	2,16	1,65	3,28	3,64
10	3,32	5,36	7,02	7,31	2,72	1,65	3,28	3,47
11	3,32	3,32	7,02	8,06	2,30	2,44	2,32	3,61
12	3,41	2,95	6,84	15,12	2,09	1,74	2,32	4,55
13	3,75	3,51	7,21	15,12	2,09	2,09	3,64	4,91
14	-	3,29	8,13	12,57	1,63	1,92	3,09	4,91
15	-	2,77	8,32	12,57	1,80	2,17	2,53	4,19
16	-	2,77	6,65	8,50	1,98	2,34	3,25	3,43
17	-	3,69	6,65	8,50	2,17	2,34	3,25	3,25
18	-	3,69	8,13	9,98	1,63	2,17	-	3,25
19	-	6,28	8,50	9,98	1,98	1,98	-	3,43
20	-	6,28	-	12,42	2,17	2,34	-	-
21	-	-	-	9,24	2,17	1,44	-	-
22	-	-	-	8,87	1,80	1,80	-	-
23	-	-	-	8,50	1,44	2,73	-	-
24	-	-	-	9,06	2,16	2,34	-	-
25	-	-	-	9,24	-	2,89	-	-
M±	3,74	4,53	8,88	11,11	2,02	2,20	3,08	3,95
±m	±0,16	±0,29	±0,60	±0,5	±0,07	±0,02	±0,13	±0,16
%	100	121 ^x	237 ^x	125 ^{xx}	100	108 ^x	152 ^x	128 ^{xx}
P		<0,05	<0,0001	<0,05		>0,05	<0,01	<0,01

Примечания: 1, 3 - вводился физиологический раствор; 2, 4 - вводился глутамат; %^x - сравниваются с группой 1, %^{xx} - сравниваются группы 3 и 4.

Таблица 38

Влияние острой гипоксии и глутамата натрия на содержание α -кетоглутаровой кислоты в сердце и почках белых крыс (в мкм на 100 г ткани)

№№	С е р д ц е				П о ч к и			
	Н о р м а		Гипоксия		Н о р м а		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	1,86	2,04	1,28	3,63	2,62	3,09	3,21	3,51
2	2,23	1,46	1,80	2,36	2,95	3,09	3,82	4,02
3	2,03	2,89	1,20	3,99	2,95	1,46	3,82	2,91
4	2,89	2,17	1,20	3,32	1,82	2,89	4,04	3,17
5	1,98	1,44	0,70	1,27	1,82	2,71	4,73	4,42
6	1,44	1,60	0,70	2,34	2,34	1,99	3,82	3,08
7	1,07	1,42	1,52	1,12	2,17	2,34	3,45	2,53
8	0,72	-	1,71	1,45	1,80	2,17	4,52	2,71
9	-	-	1,24	1,71	1,80	1,80	4,15	2,16
10	-	-	1,42	1,71	1,99	3,30	2,12	2,16
11	-	-	1,88	1,76	2,17	2,01	2,45	2,36
12	-	-	1,54	1,58	2,53	1,76	2,45	2,36
13	-	-	-	-	2,17	2,97	3,07	3,25
14	-	-	-	-	2,45	2,97	3,07	3,43
15	-	-	-	-	2,29	-	-	4,20
16	-	-	-	-	-	-	-	4,20
17	-	-	-	-	-	-	-	2,12
18	-	-	-	-	-	-	-	2,12
19	-	-	-	-	-	-	-	3,00
20	-	-	-	-	-	-	-	3,04
M $\pm$	1,77	1,86	1,43	2,18	2,25	2,46	3,48	3,03
$\pm m$	$\pm 0,23$	$\pm 0,20$	$\pm 0,11$	$\pm 0,28$	$\pm 0,03$	$\pm 0,15$	$\pm 0,25$	$\pm 0,25$
%	100	105 ^x	81 ^x	152 ^{xx}	100	109 ^x	154 ^x	87 ^{xx}
P		>0,5	>0,05	<0,05		>0,1	<0,05	>0,05

Примечания: 1, 3 - вводился физиологический раствор;
 2, 4 - вводился глутамат натрия;
 %^x - сравниваются с группой 1;
 %^{xx} - сравниваются группы 3 и 4.

Предварительные инъекции глутамата перед помещением крыс в барокамеру повышают концентрацию α -кетоглутаровой кислоты в крови (25%), печени (28%) и сердце (52%, табл. 37, 38, группы 3 и 4). Однако в почках при введении глутамата имеется тенденция к снижению α -кетоглутаровой кислоты (13%, $p > 0,05$; табл. 38, группы 3 и 4).

Если принять за 100% показатели контрольных животных (группы I) и по отношению к ним сравнивать результаты других групп, то выявляется ряд общих черт для действия острой гипоксии и глутаминовой кислоты на концентрацию α -кетоглутаровой кислоты в крови, почках и печени (рис. 51, 52, 54). В этих тканях после острой гипоксии содержание α -кетоглутаровой кислоты увеличивается. Глутаминовая кислота в условиях острой гипоксии еще больше повышает концентрацию α -кетоглутарата только в крови и печени. Необходимо отметить, что в сердечной мышце под влиянием острой гипоксии происходит снижение α -кетоглутарата, а глутаминовая кислота повышает концентрацию этого соединения в миокарде (рис. 53).

Таким образом, между концентрацией α -кетоглутарата в крови и печени существует определенная корреляция, которая отсутствует в тканях почек и миокарда.

При адаптации животных к недостатку кислорода концентрация α -кетоглутарата в крови, печени и сердце находится на уровне контрольных групп (табл. 39, 40, группы I и 3). В почках у адаптированных к гипоксии животных определяется уменьшение концентрации α -кетоглутаровой кислоты на 33%.

Введения глутамата натрия животным, находившимся в нормальных условиях опытов (препарат вводился один раз в день в течение 14 суток), сопровождаются увеличением α -кетоглутарата в крови на 36% и в печени — на 18% (табл. 39, группы I и 2). В сердечной мышце

Таблица 39

Влияние хронической гипоксии и глутамата натрия на содержание
 α -кетоглутаровой кислоты в крови и печени белых крыс
 (в мкм на 100 г ткани)

№№	К р о в ь				П е ч е н ь			
	Н о р м а		Гипоксия		Н о р м а		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
I	4,60	7,15	2,88	4,80	2,59	2,89	1,47	1,87
2	4,79	7,54	4,32	5,00	2,17	3,52	1,65	1,49
3	4,28	5,95	5,16	5,16	2,63	2,89	1,49	1,87
4	3,56	5,16	5,53	5,54	2,63	3,25	1,47	1,87
5	5,36	3,94	5,71	5,49	2,60	3,13	3,46	2,81
6	4,80	4,78	5,91	6,44	2,08	2,78	4,43	2,60
7	4,80	9,89	5,67	6,73	2,43	2,08	2,38	1,38
8	4,25	9,89	6,04	6,73	2,08	2,08	2,77	1,57
9	6,75	5,54	3,63	5,73	2,44	2,45	2,02	1,41
10	6,71	6,10	3,63	4,98	2,44	1,93	1,52	1,41
11	7,28	9,43	6,22	5,92	2,44	2,10	1,87	1,54
12	7,54	10,68	5,92	6,09	1,75	3,25	1,87	1,54
13	5,06	5,91	6,21	7,72	2,34	2,89	1,38	1,35
14	4,34	5,54	6,56	8,07	1,80	2,71	1,73	1,35
15	5,91	7,23	7,76	9,04	1,80	2,52	2,72	2,09
16	5,91	7,93	7,76	—	2,34	2,34	2,72	2,09
17	4,15	—	7,73	—	2,04	2,71	1,17	1,66
18	4,52	—	7,20	—	2,23	—	1,04	2,16
19	3,64	—	6,38	—	2,17	—	1,34	2,06
20	4,00	—	6,56	—	2,17	—	2,79	2,40
21	—	—	—	—	—	—	2,97	3,26
22	—	—	—	—	—	—	3,06	2,25
23	—	—	—	—	—	—	3,08	2,42
M±	5,11	6,99	5,83	6,20	2,25	2,66	2,19	1,94
±m	±0,26	±0,16	±0,09	±0,10	±0,06	±0,10	±0,26	±0,02
%	100	136 ^x	114 ^x	106 ^{xx}	100	118 ^x	98 ^x	88 ^{xx}
P		<0,05	>0,05	>0,1		<0,01	>0,5	>0,05

Примечания: 1, 3 — вводился физиологический раствор; 2, 4 — вводился глутамат натрия; %^x — сравниваются с группой 1; %^{xx} — сравниваются с группой 3.

Таблица 40

Влияние хронической гипоксии и глутамата натрия на содержание α -кетоглутаровой кислоты в сердечной мышце и почках
(в мм на 100 г ткани)

№	С е р д ц е				П о ч к и			
	Н о р м а		Гипоксия		Н о р м а		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	1,04	1,45	1,38	1,32	2,17	2,30	1,44	1,78
2	1,69	1,45	1,20	1,65	2,13	3,06	2,16	1,78
3	1,06	1,08	1,64	1,35	3,58	3,17	2,38	2,53
4	1,06	1,08	1,27	1,16	3,23	3,17	0,85	2,11
5	1,21	1,05	1,53	1,61	3,15	3,17	1,02	2,02
6	1,53	1,22	1,70	1,79	3,15	2,82	2,18	2,02
7	0,89	0,75	1,02	1,49	3,38	2,84	2,64	3,23
8	1,89	0,75	1,36	1,28	2,84	3,20	2,46	1,22
9	-	1,36	1,35	1,03	2,82	3,00	1,87	1,74
10	-	-	1,69	1,03	3,17	2,65	2,32	-
11	-	-	1,52	-	-	-	-	-
12	-	-	1,85	-	-	-	-	-
M $\pm$	1,30	1,13	1,46	1,20	2,96	2,93	1,97	2,04
$\pm m$	$\pm 0,13$	$\pm 0,08$	$\pm 0,16$	$\pm 0,16$	$\pm 0,15$	$\pm 0,08$	$\pm 0,18$	$\pm 0,20$
%	100	87 ^X	112 ^X	82 ^{XX}	100	-	67 ^X	103 ^{XX}
P		>0,5	>0,05	>0,05	-	-	<0,01	-

Примечания: 1, 3 - вводился физиологический раствор;

2, 4 - вводился глутамат натрия;

%^X - сравниваются с группой 1;

%^{XX} - сравниваются группы 3 и 4.

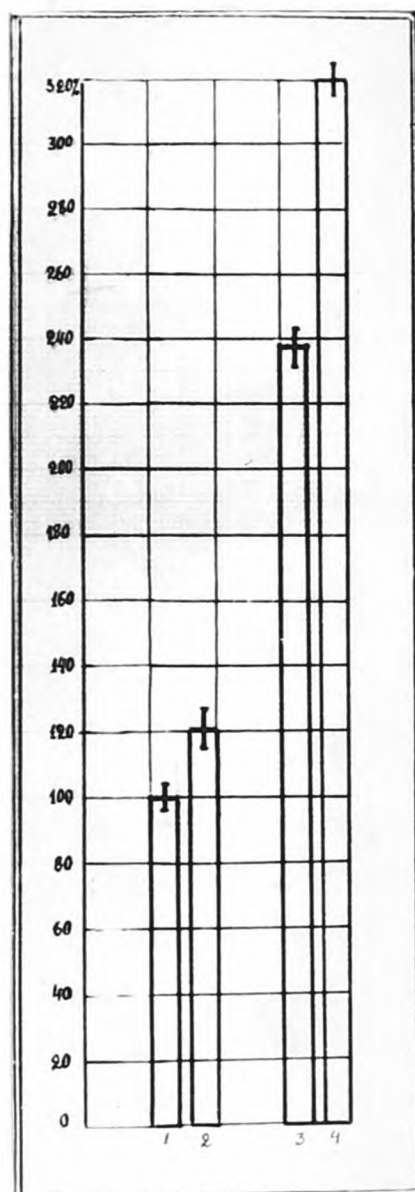


Рис. 51

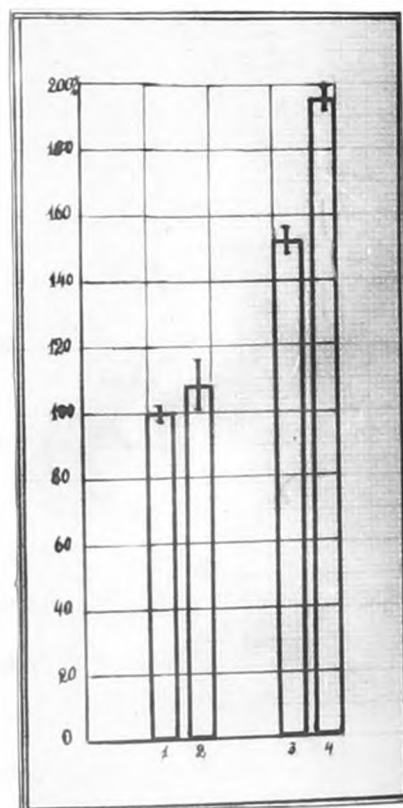


Рис. 52

Содержание α -кетоглутаровой кислоты в крови (рис. 51) и печени (рис. 52) при острой гипоксии. Норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2); гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4).

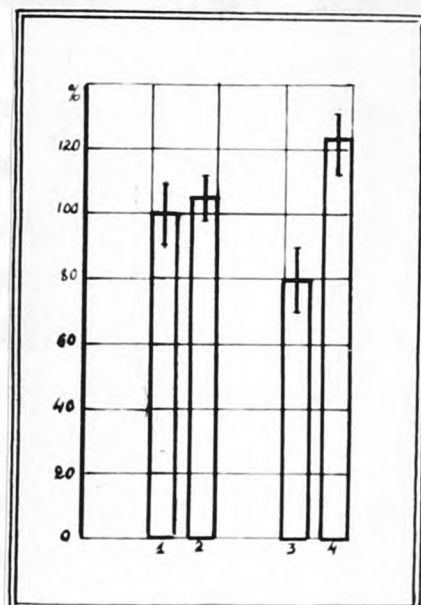


Рис. 53

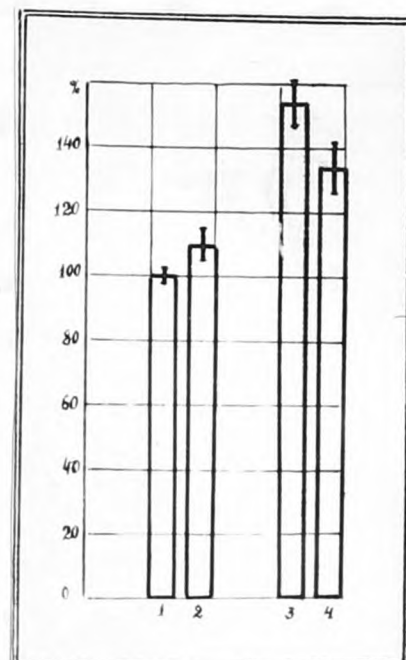


Рис. 54

Содержание α -кетоглутаровой кислоты в сердце (рис. 53) и почках (рис. 54) при острой гипоксии. Норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2); гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4).

и почках в аналогичных условиях экспериментов глутамат не влияет на количество α -кетоглутаровой кислоты (табл. 40).

Длительное введение глутаминовой кислоты животным в период их адаптации к гипоксии не приводит к каким-либо изменениям в концентрации α -кетоглутаровой кислоты в крови, печени, сердце и почках (табл. 39, 40, группы 3 и 4).

Сравнительный анализ результатов экспериментов с острой и хронической кислородной недостаточностью показывает, что в опытах с острой гипоксией концентрация α -кетоглутаровой кислоты в печени, почках и в крови увеличивается примерно в 1,5 – 2 раза (рис.

51, 52, 54). Повышение содержания указанной кислоты можно расценивать как замедление окисления α -кетоглутарата в печени и почках, вызванное острым кислородным голоданием. Повышение концентрации α -кетоглутарата в крови в этих условиях опыта, по-видимому, происходит в результате выхода α -кетоглутаровой кислоты в кровь из печени, где окисление его резко заторможено. Не исключено также образование α -кетоглутарата непосредственно в крови в реакциях переаминирования, где активность аминотрансфераз повышается при недостатке кислорода в организме (В.Д.Гольдштейн, 1969; N.K.Sarkar 1969). Уменьшение α -кетоглутаровой кислоты в сердечной мышце при остром дефиците кислорода, по-видимому, свидетельствует о том, что, несмотря на недостаток кислорода в организме, в миокарде не происходит угнетения аэробных окислительных процессов.

В процессе адаптации животных к гипоксии происходит нормализация содержания α -кетоглутаровой кислоты в крови, печени и миокарде (рис. 55, 56, 57) и снижение ее количества в почках (рис. 58). Отсутствие изменений в концентрации α -кетоглутарата в крови, печени и сердце адаптированных к кислородной недостаточности животных свидетельствует о нормализации обмена α -кетоглутарата в этих тканях. Сниженный уровень α -КГЛ в почках, вероятно, можно расценивать как усиление окисления его в ткани почек в связи с тем, что при хронической гипоксии почки, очевидно, испытывают повышенную функциональную нагрузку.

При введении в организм глутамата натрия в условиях острой гипоксии выявляется увеличение α -кетоглутарата в крови, печени и миокарде, однако у адаптированных к кислородному голоданию животных когда обмен α -кетоглутарата нормализуется, глутамат оказывается неэффективным.

Увеличение концентрации α -кетоглутарата в условиях острой

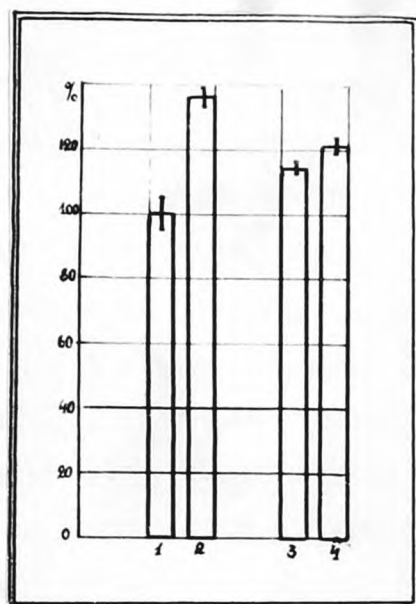


Рис. 55

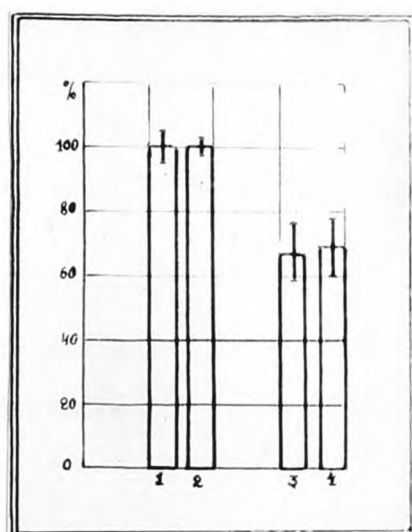


Рис. 56

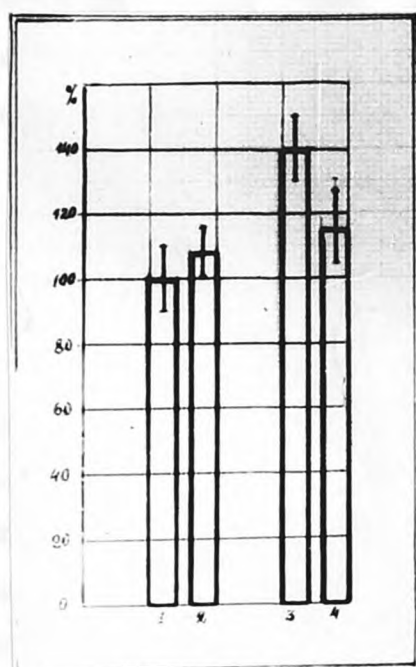


Рис. 57

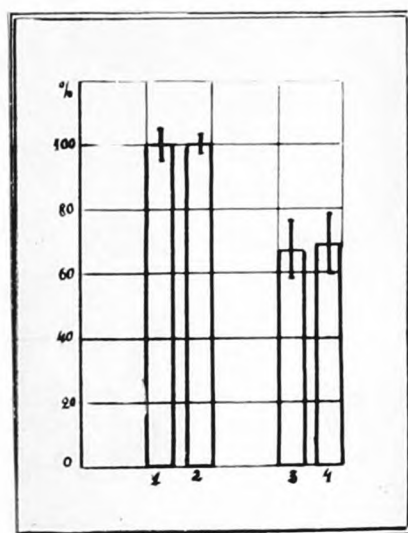


Рис. 58

Содержание α -кетоглутаровой кислоты в крови (рис. 55), печени (рис. 56), сердце (рис. 57) и почках (рис. 58). Норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2); хроническая гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4).

гипоксии через 60 мин после введения в организм глутаминовой кислоты обусловлено непосредственным превращением данной аминокислоты в *L*-кетоглутарат, что вполне соизмеримо с повышенным содержанием глутаминовой кислоты после ее введения в организм (А.М.Генкин и соавт., 1967).

Результаты исследования влияния гипоксии и глутамата на концентрацию *L*-кетоглутаровой кислоты в тканях белых крыс показывают, что острая гипоксия сопровождается увеличением количества

L-кетоглутарата в крови, печени и почках и уменьшением ее содержания в миокарде. У адаптированных к гипоксии животных отсутствуют изменения в концентрации *L*-кетоглутарата в крови, печени и сердечной мышце, а в почках определяется меньшее количество *L*-кетоглутаровой кислоты, чем в контроле. Глутамат натрия повышает концентрацию *L*-кетоглутарата в крови, печени и сердце и снижает его количество в почках у животных, перенесших острую гипоксию, и не влияет на эти показатели у адаптированных к гипоксии животных.

3. ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ И ГЛУТАМАТА НАТРИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ЦАВЕЛЕВОУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ В КРОВИ, ПЕЧЕНИ, МИОКАРДЕ И ПОЧКАХ БЕЛЫХ КРЫС

Изучение обмена цавелевоуксусной кислоты представляет большой интерес в связи с тем, что при непосредственном участии ЦУК происходит окисление в цикле Кребса ацетил-КоА, образующегося при катаболизме углеводов, жирных кислот и аминокислот. Выше указывалось, что ЦУК участвует в регуляции метаболизма в митохондриях как ингибитор сукцинатдегидрогеназы. Наибольшее значение ЦУК как регулятора реакций цикла Кребса проявляется при различных воздействиях на организм, в том числе и при гипоксии (М.И.Кондрашова, 1969, 1969а). Глутаминовая кислота, являясь своеобразным "шунтом", вступает в реакцию переаминирования со ЦУК и обеспечивает ускорение реакций,

расположенных между α -кетоглутаровой кислотой и ШУК (Н.А.Кrebs D.Bellamy, 1960; P.Borst, 1962). Таким образом, между обменом ШУК и глутамата имеется тесная взаимосвязь.

В таблице 41 представлены результаты опытов по влиянию острой гипоксии ("высота" 8000 м, 1 час) и глутамата на содержание щавелевоуксусной кислоты в крови и печени белых крыс. Острая гипоксия сопровождается увеличением ШУК в крови более, чем в 2 раза (группы I и 3).

Однако в сердечной мышце и почках (табл. 42, группы I и 3) у животных, перенесших острую гипоксию, происходит значительное снижение щавелевоуксусной кислоты. Так, в миокарде концентрация ШУК составляет 44%, а в почках — 73% по отношению к контролю.

Предварительные инъекции глутамата перед помещением крыс в барокамеру не влияют на содержание ШУК в крови, печени и миокарде и повышают ее количество в почках на 22% (табл. 42, группы 3 и 4).

У адаптированных к гипоксии животных (табл. 43, 44) нет различий в концентрации ШУК (группы 3) по сравнению с контролем (группы I) в крови, печени и сердечной мышце. В ткани почек в этих же условиях опытов содержание ШУК увеличивается на 30% (группы I и 3).

Введение глутамата раз в течение двух недель 1 раз в день в период адаптации крыс к гипоксии не влияет на содержание ШУК в крови, печени, сердце и почках (табл. 43, 44, группы 3 и 4). Однако в нормальных условиях опытов длительное введение глутамата снижает концентрацию ШУК в печени на 19% и в почках — на 24% (табл. 43, 44, группы I и 2).

Приведенные результаты свидетельствуют о том, что в условиях острой гипоксии концентрация ШУК в разных органах изменяется неодинаково. Это положение иллюстрируется рисунками 59-62. Если в

Влияние острой гипоксии и глутамата натрия на содержание павелевоуксусной кислоты в крови и печени белых крыс
(в мм на 100 г ткани)

№	К р о в ь				П е ч е н ь			
	Н о р м а		Гипоксия		Н о р м а		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	2,03	1,01	3,15	3,25	2,12	1,53	1,63	2,62
2	1,23	1,03	3,43	3,25	2,65	1,53	1,63	2,29
3	1,49	1,30	4,48	3,53	3,45	3,57	1,81	1,62
4	1,49	1,30	3,96	6,15	3,45	2,36	2,54	2,54
5	2,98	1,84	5,63	6,15	2,01	3,09	2,91	2,54
6	2,79	2,03	5,25	5,44	2,01	2,93	3,28	2,56
7	3,14	2,79	6,05	5,63	1,81	2,93	1,85	1,99
8	2,57	2,79	6,05	3,86	1,81	1,63	2,16	1,81
9	1,66	1,86	3,69	3,03	1,62	2,20	2,46	1,73
10	1,66	2,60	3,51	5,36	1,62	3,14	2,93	1,53
11	2,23	3,51	6,65	5,72	2,56	1,75	2,53	1,99
12	1,86	3,51	5,91	6,84	2,13	3,14	2,53	2,17
13	1,85	3,14	3,69	6,09	2,46	3,14	2,89	1,62
14	1,85	2,77	3,69	3,51	2,46	1,99	1,81	1,62
15	-	1,84	2,77	3,50	1,81	1,63	1,99	2,17
16	-	1,84	2,95	3,87	1,81	1,63	1,99	2,35
17	-	2,03	4,06	3,33	1,81	1,81	1,81	1,99
18	-	2,03	3,33	3,50	2,17	1,63	-	2,17
19	-	2,40	-	-	1,81	1,56	-	-
20	-	1,10	-	-	1,62	1,95	-	-
21	-	1,10	-	-	1,62	1,81	-	-
22	-	3,04	-	-	1,81	-	-	-
23	-	2,05	-	-	1,08	-	-	-
24	-	1,66	-	-	2,34	-	-	-
25	-	1,84	-	-	-	-	-	-
m±	2,05	2,12	4,34	4,55	2,08	2,28	2,27	2,07
±m	±0,15	±0,15	±0,28	±0,28	±0,11	±0,15	±0,11	±0,02
%	100	103 ^x	211 ^x	104 ^{xx}	100	109 ^x	109 ^x	91 ^{xx}
P			<0,0001	>0,5		>0,1		

Примечания: 1, 3 - вводился физиологический раствор; 2, 4 - вводился глутамат натрия; %^x - сравниваются с группами 1, %^{xx} - сравниваются группы 3 и 4.

Влияние острой гипоксии и глутамата натрия на содержание щавелевоуксусной кислоты в сердечной мышце и почках
(в мкм на 100 г ткани)

№	С е р д ц е				П о ч к и			
	Н о р м а		Гипоксия		Н о р м а		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	3,91	4,79	1,47	1,52	1,96	1,75	1,87	2,76
2	5,74	4,03	3,09	3,15	1,63	1,39	1,28	2,69
3	3,43	4,62	3,87	1,86	2,77	1,81	1,46	2,31
4	4,34	5,25	2,43	4,80	2,21	1,81	2,18	1,05
5	5,72	5,60	1,06	2,89	1,81	1,62	1,81	2,15
6	5,61	6,83	1,59	1,46	2,18	1,81	1,44	2,15
7	3,24	5,97	1,59	0,75	2,89	1,99	1,44	1,40
8	-	-	1,54	0,75	2,53	2,16	1,62	1,40
9	-	-	1,54	1,03	1,99	2,89	1,81	1,42
10	-	-	-	1,03	2,53	1,81	1,06	1,78
11	-	-	-	1,76	2,26	1,65	1,06	1,78
12	-	-	-	1,93	2,17	1,76	1,40	1,43
13	-	-	-	-	1,42	1,93	1,40	-
14	-	-	-	-	1,06	1,05	-	-
15	-	-	-	-	1,93	1,40	-	-
M±	4,56	5,29	2,02	1,92	2,08	1,42	1,52	1,86
±m	±0,40	±0,35	±0,30	±0,30	±0,12	±0,14	±0,03	±0,15
%	100	116 ^x	44 ^x	95 ^{xx}	100	68 ^x	73 ^x	122 ^{xx}
P		> 0,05	< 0,05	> 0,5		< 0,01	< 0,01	< 0,01

Примечания: 1,3 - вводился физиологический раствор;
2,4 - вводился глутамат натрия;
%^x - сравнение с группами 1;
%^{xx} - сравниваются группы 3 и 4.

крови концентрация ШУК увеличивается более чем вдвое, то в печени ее количество остается на уровне контрольной группы. В сердечной мышце и в почках острое кислородное голодание вызывает снижение ШУК (рис. 61, 62). В процессе адаптации к гипоксии происходит нормализация концентрации ШУК в крови и миокарде и увеличение ее количества в почках. Глутамат в условиях острой и хронической гипоксии не влияет на концентрацию ШУК в крови, печени и сердце и увеличивает ее количество в почках в условиях острой гипоксии.

Данные литературы свидетельствуют о том, что в условиях гипоксии происходит накопление недоокисленных продуктов обмена (I. Feilen, 1955; Н.И. Прохорова и соавт., 1957; G. Michal и соавт., 1959; З.И. Барбашова, 1960; Ю.М. Гефтер и соавт., 1961; Ю.М. Геворгян, 1966; Н.П. Ларионов, 1968; Л.Н. Симановский и соавт., 1969, 1970), в том числе и пирувата (Н.И. Прохорова и соавт., 1957; А.П. Валов, 1970). Одновременно с этим увеличивается аминотрансферазная активность. Поэтому увеличение концентрации ШУК в крови, очевидно, обусловлено ускорением реакции переаминирования аспарагиновой кислоты с кетокислотами, которые накапливаются в значительных количествах при острой гипоксии (табл. 41, рис. 59). Отсутствие изменений в концентрации ШУК при острой гипоксии в печени и снижение ее количества в сердце и почках (несмотря на то, что реакции цикла Кребса резко заторможены) является, по-видимому, следствием восстановления ШУК избытком восстановленного НАД и превращением ее в малат и сукцинат (Н.Н. Кондрашова, 1967). Об этом же свидетельствуют наши данные, показывающие увеличение янтарной кислоты в почках при остром кислородном голодании (табл. 36, рис. 47). В процессе акклиматизации к гипоксии происходит восстановление окислительных процессов в тканях и нормализация содержания ШУК в крови, печени и сердце.

Низкие концентрации ШУК, которые определяются в миокарде и

Влияние хронической гипоксии и глутамата натрия на содержание щавелевоуксусной кислоты в крови и печени белых крыс (в мкм на 100 г ткани)

№№	Печень				Кровь			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	1,81	1,08	1,47	2,24	0,87	1,19	0,90	1,80
2	1,44	1,08	1,10	1,49	1,15	1,00	1,26	1,20
3	1,49	1,12	1,73	1,87	1,17	1,40	0,89	1,29
4	1,49	1,31	3,04	1,49	0,97	1,19	1,34	2,39
5	1,40	1,75	1,55	2,76	1,10	1,38	1,58	1,14
6	2,10	1,75	1,93	2,95	1,47	1,18	1,18	1,33
7	1,75	1,40	1,35	1,94	1,47	1,14	1,10	1,46
8	2,12	1,40	1,52	1,76	1,38	0,76	1,55	0,74
9	1,75	2,12	1,36	1,71	1,58	1,10	1,20	0,74
10	2,12	1,76	1,19	1,71	1,59	1,29	1,57	1,91
11	1,76	1,76	1,38	1,35	1,19	1,10	1,39	2,09
12	1,81	1,76	1,73	1,75	1,26	1,46	1,04	1,93
13	1,62	1,08	1,90	1,92	1,43	1,10	1,21	2,11
14	1,08	0,90	1,73	1,66	1,47	1,10	1,55	1,85
15	1,81	1,08	1,33	2,06	1,47	1,08	1,73	-
16	1,66	0,90	1,50	2,40	1,34	1,34	1,76	-
17	0,90	1,08	3,28	2,57	0,89	-	0,88	-
18	-	1,08	2,25	3,08	1,09	-	-	-
19	-	-	2,29	1,90	1,09	-	-	-
20	-	-	1,95	2,25	-	-	-	-
21	-	-	2,23	1,01	-	-	-	-
22	-	-	2,74	1,01	-	-	-	-
M $\pm$	1,65	1,35	1,84	1,94	1,26	1,17	1,30	1,56
$\pm m$	$\pm 0,08$	$\pm 0,08$	$\pm 0,12$	$\pm 0,11$	$\pm 0,03$	$\pm 0,04$	$\pm 0,07$	$\pm 0,13$
%	100	81 ^x	111 ^x	105 ^x	100	92 ^x	101 ^x	120 ^{xx}
P		<0,01	>0,05	>0,5		>0,5		>0,05

Примечания: 1, 3 - вводился физиологический раствор;

2, 4 - вводился глутамат натрия;

%^x - сравнение с группами 1;

%^{xx} - сравниваются группы 3 и 4.

Таблица 44

Влияние хронической гипоксии и глутамата натрия
на содержание ШУК в миокарде и почках белых крыс
(в мкм на 100 г ткани)

№	Сердце				Почки			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	0,70	1,81	0,87	1,16	1,08	1,14	1,62	1,78
2	0,52	1,08	1,20	1,16	1,26	1,14	1,44	2,13
3	2,12	1,08	2,00	1,54	2,23	1,42	2,32	3,09
4	1,78	1,44	1,64	1,35	2,23	1,06	2,32	2,97
5	2,82	2,12	1,19	1,07	2,12	1,42	1,02	1,35
6	2,29	2,29	1,02	0,90	1,60	1,42	1,19	1,69
7	1,09	1,12	0,85	1,12	1,78	1,42	1,46	2,02
8	0,90	1,49	1,02	1,68	0,88	1,42	1,64	1,69
9	1,50	1,34	1,52	1,68	0,71	0,71	2,11	2,21
10	-	-	1,68	1,93	2,12	-	3,16	2,55
11	-	-	1,68	2,10	-	-	2,38	2,27
12	-	-	1,85	-	-	-	3,40	2,79
M±	1,52	1,53	1,37	1,42	1,60	1,23	2,08	1,99
±m	±0,16	±0,15	±0,10	±0,11	±0,13	±0,09	±0,19	±0,17
%	100	100 ^x	90	103 ^{xx}	100	76 ^x	130 ^x	95 ^{xx}
P	-	-	>0,1	-	-	=0,05	<0,05	-

Примечания: 1, 3 - вводился физиологический раствор;
2, 4 - вводился глутамат натрия;
%^x - сравнение с группами 1;
%^{xx} - сравниваются группы 3 и 4.

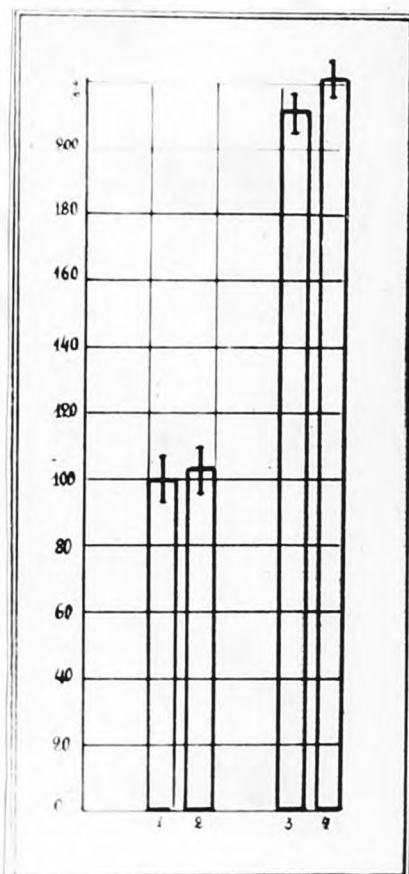


Рис. 59

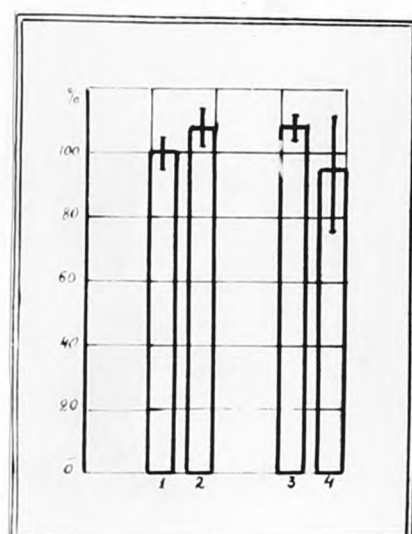


Рис. 60

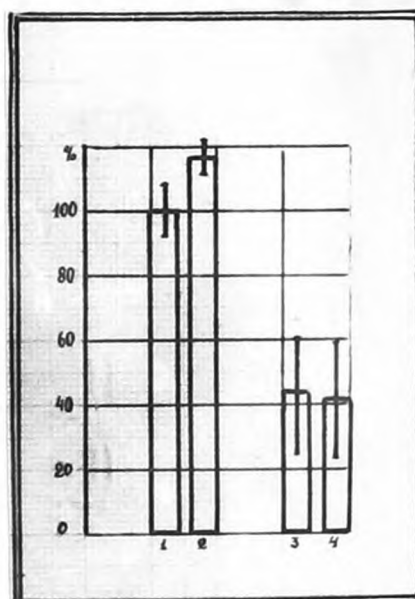


Рис. 61

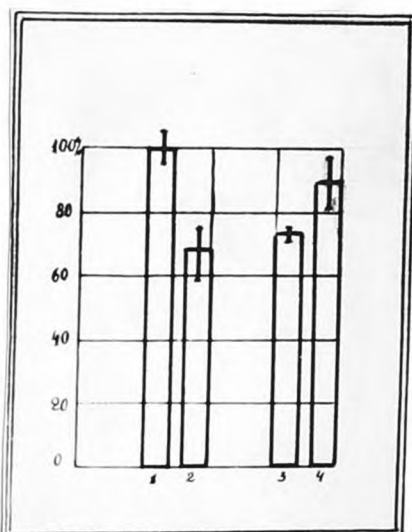


Рис. 62

Влияние острой гипоксии и глутамата натрия на концентрацию ЩУК в крови (рис. 59), печени (рис. 60), миокарде (рис. 61) и почках (рис. 62) белых крыс. Норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат (2); гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат (4).

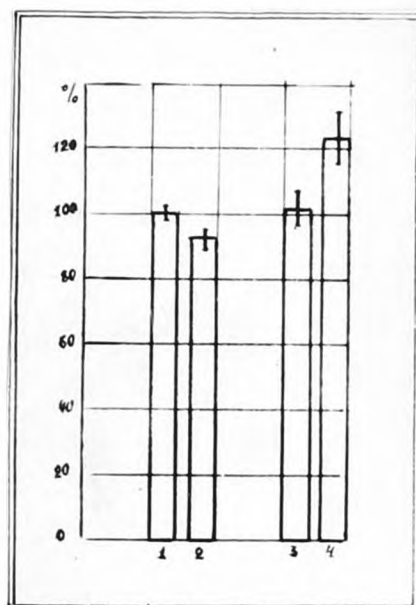


Рис. 63

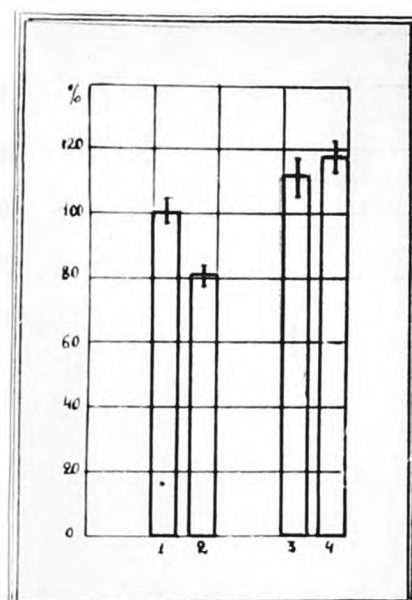


Рис. 64

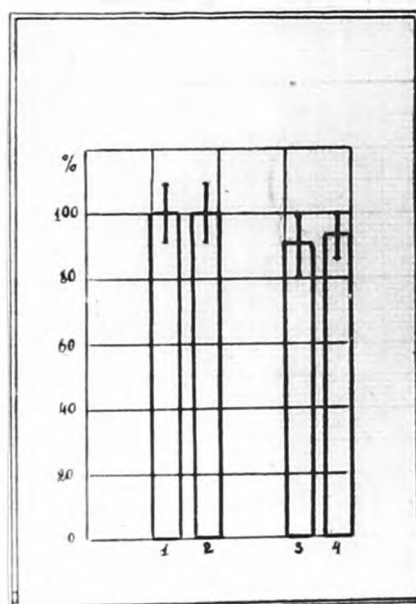


Рис. 65

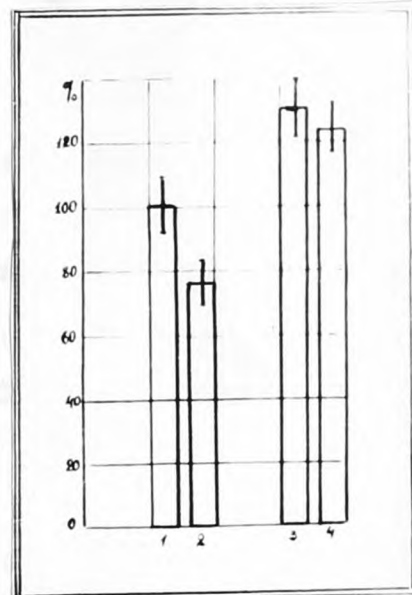
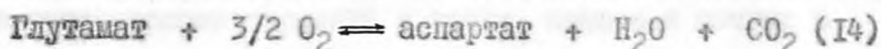
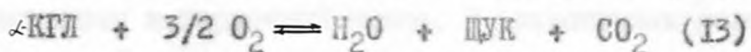


Рис. 66

Влияние хронической гипоксии и глутамата на концентрацию БУН в крови (рис. 63), печени (рис. 64), миокарде (рис. 65) и почках (рис. 66) белых крыс. Норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат (2); гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат (4).

почках после острой гипоксии и в почках у адаптированных к гипоксии животных, не изменяются при введении в организм глутамата. Это свидетельствует о том, что глутамат в указанных органах вовлекается в обмен в основном посредством реакции переаминирования со ПУК, в которой происходит количественное превращение глутаминовой кислоты в аспарат. Возможность такого превращения глутаминовой кислоты показана в ряде работ (реакции I2-I4) (P. Borst, E. Slater, 1960; P. Borst, 1962):



Таким образом, после пребывания животных в условиях острой гипоксии выявлено резкое увеличение концентрации ПУК в крови и снижение ее количества в сердце и почках. При адаптации к гипоксии наблюдается нормализация содержания щавелевоуксусной кислоты в крови и миокарде и увеличение ее концентрации в почках. Глутамат повышает концентрацию ПУК в почках при острой гипоксии и в крови адаптированных к дефициту кислорода крыс.

4. ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ И ГЛУТАМАТА НАТРИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ В КРОВИ, ПЕЧЕНИ, МИОКАРДЕ И ПОЧКАХ БЕЛЫХ КРЫС

Обмен пировиноградной кислоты является одним из основных звеньев, с помощью которого обеспечивается взаимосвязь метаболизма углеводов, белков и жиров. Недостаток кислорода в организме сопровождается значительными сдвигами в углеводном, белковом и жировом обменах. Кроме того, пировиноградная кислота в реакции карбоксилирования может превращаться в ПУК. В свою очередь, щавелевоуксусная

кислота, как отмечалось выше, играет важную регуляторную функцию и является источником образования сукцината.

После пребывания животных в условиях острой гипоксии (табл. 45, 46) обнаружено увеличение количества ПВК в крови, печени и почках. Особенно выраженный сдвиг в содержании указанной кислоты выявляется в крови и почках. При этом концентрация пирувата в крови повышается почти в 3,5 раза, а в почках — в 2 раза. В печени содержание пирувата возрастает всего на 42%. Наши результаты совпадают с данными М.И. Прохоровой и соавт., 1957, 1965). Сдвиги противоположного порядка выявлены в сердечной мышце. В аналогичных условиях опытов в миокарде происходит снижение концентрации ПВК на 30%.

Увеличение концентрации пирувата в крови, печени и почках в условиях кислородного голодания является следствием ингибирования аэробных окислительных процессов и стимуляции гликолиза (Л.П. Говор, 1966; О.И. Ласица и соавт., 1968). В таком жизненно важном органе, как сердце, снижение ПВК, вероятно, обусловлено тем, что при гипоксии, когда сердечная мышца испытывает усиленную нагрузку и нуждается в поставке большого количества макроэргов, происходит усиление окисления пирувата и снижение его концентрации в этом органе.

В процессе адаптации к гипоксии наблюдается снижение содержания ПВК в сердечной мышце и печени (табл. 47, 48, группы I и 3). В контроле концентрация ПВК в миокарде равна 2,58 мкм, а в опыте — I,25 мкм, в печени — 2,15 мкм и I,65 мкм соответственно. Уменьшение концентрации составляет в сердце 52% и в печени 23%. Аналогичные сдвиги (но менее выраженные и недостоверные) выявляются в крови и почках (табл. 47, 48, рис. 71, 74).

Предполагается, что снижение концентрации ПВК в тканях адаптированных к гипоксии животных является показателем усиления вовлече-

Влияние острой гипоксии и глутамата натрия на содержание пировиноградной кислоты в крови и печени белых крыс
(в мкм на 100 г ткани)

№	К р о в ь				П е ч е н ь			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	3,60	8,12	11,52	14,10	2,11	2,54	2,54	3,60
2	3,79	9,58	10,31	12,41	3,01	3,05	2,54	2,31
3	2,58	7,44	8,39	10,30	2,00	5,36	3,72	3,31
4	2,58	7,07	8,93	10,30	3,77	4,35	3,54	2,80
5	2,21	6,64	13,17	17,23	1,45	1,53	5,45	3,32
6	2,58	6,46	12,37	17,42	1,45	2,18	4,36	3,32
7	3,51	2,42	12,94	14,00	3,29	4,02	3,63	4,34
8	3,51	2,61	8,50	9,82	3,67	6,02	2,54	4,00
9	2,23	3,02	8,50	12,62	2,53	3,29	2,78	3,27
10	2,23	2,58	10,52	13,34	2,53	3,37	3,40	3,25
11	3,00	3,69	10,52	7,56	2,17	2,18	2,35	3,79
12	3,37	3,32	11,26	7,20	2,53	2,53	2,35	2,88
13	-	2,39	11,07	8,30	2,56	2,88	2,88	3,95
14	-	3,32	7,94	8,30	2,56	1,60	2,88	3,40
15	-	3,32	7,76	11,81	3,37	2,74	2,50	3,10
16	-	4,79	8,12	11,81	1,46	2,44	2,52	3,25
17	-	7,93	8,30	9,60	1,80	2,79	2,88	3,25
18	-	8,48	-	9,23	1,80	2,27	3,06	3,06
19	-	5,17	-	9,60	1,98	1,80	-	2,88
20	-	5,17	-	18,45	1,44	2,14	-	3,51
21	-	-	-	18,45	1,47	1,93	-	3,06
22	-	-	-	-	1,29	1,61	-	-
23	-	-	-	-	1,85	1,85	-	-
24	-	-	-	-	1,65	2,03	-	-
M [±]	2,93	5,13	10,00	11,99	2,17	2,77	3,10	3,31
±m	±0,17	±0,50	±0,40	±0,76	±0,14	±0,23	±0,19	±0,03
%	100	175 ^x	341 ^x	120 ^{xx}	100	127 ^x	142 ^x	106 ^{xx}
P		<0,01	<0,001	<0,05		<0,05	<0,05	>0,5

Примечания: 1, 3 - вводился физиологический раствор;
2, 4 - вводился глутамат натрия;
%^x - сравнение с группами 1;
%^{xx} - сравниваются группы 3 и 4.

Таблица 46

Влияние острой гипоксии и глутамата на содержание пировиноградной кислоты в миокарде и почках белых крыс (в мкм на 100 г ткани)

№	Сердце				Почки			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	1,63	2,23	2,57	3,06	1,30	2,10	1,87	2,51
2	3,36	4,21	2,59	1,26	1,63	1,75	3,67	2,76
3	1,46	1,64	1,30	3,32	1,63	3,27	4,17	2,00
4	4,34	2,17	1,61	1,28	1,45	4,09	4,00	2,36
5	3,32	3,61	1,61	1,84	1,80	2,70	2,72	3,85
6	2,21	2,03	1,71	1,50	1,44	2,35	3,25	3,61
7	1,96	1,59	1,90	1,50	1,47	2,15	3,25	3,79
8	1,61	1,59	1,50	1,42	1,65	1,80	2,34	3,68
9	-	1,78	1,50	1,77	2,11	1,65	2,71	1,61
10	-	1,95	1,42	1,81	1,40	1,29	3,15	1,61
11	-	-	1,77	1,93	1,04	1,92	2,48	1,98
12	-	-	1,81	1,71	1,39	1,73	-	2,34
13	-	-	1,93	1,71	-	1,56	-	3,13
14	-	-	1,42	-	-	-	-	3,13
15	-	-	1,59	-	-	-	-	2,31
16	-	-	0,82	-	-	-	-	2,48
17	-	-	0,87	-	-	-	-	-
M±	2,48	2,28	1,64	1,85	1,52	2,18	3,05	2,69
±m	±0,37	±0,28	±0,10	±0,16	±0,07	±0,21	±0,21	±0,16
%	100	92	70 ^x	112 ^{xx}	100	143	200 ^x	88 ^{xx}
P		>0,5	<0,05	>0,2		<0,02	<0,001	>0,1

Примечания: 1, 3 - вводился физиологический раствор;
2, 4 - вводился глутамат натрия;

%^x - сравнение с группами 1;

%^{xx} - сравниваются группы 3 и 4.

Влияние хронической гипоксии и глутамата на содержание пировиноградной кислоты в крови и печени белых крыс
(в мм на 100 г ткани)

№г	К р о в ь				П е ч е н ь			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	6,54	10,65	3,96	4,80	1,80	1,80	0,76	1,95
2	6,54	10,45	4,42	4,80	1,80	1,80	0,76	1,95
3	5,09	6,81	4,01	4,43	1,44	1,62	0,74	1,54
4	4,70	6,46	4,77	4,23	1,44	1,80	1,73	1,57
5	3,69	3,98	4,33	3,98	2,76	2,42	1,52	1,76
6	3,69	3,98	4,33	3,98	2,76	2,42	2,38	1,94
7	3,32	10,30	3,96	6,02	2,06	2,06	2,16	1,37
8	3,32	10,30	3,96	6,20	2,06	2,06	1,34	1,54
9	6,77	5,54	3,63	4,86	2,14	2,44	1,35	1,85
10	6,77	5,54	3,79	5,17	1,75	2,44	2,21	1,68
11	4,02	9,22	3,13	5,35	3,13	1,75	2,21	1,92
12	4,02	9,22	3,48	5,97	3,13	2,09	1,38	2,09
13	7,25	7,38	4,14	5,57	2,19	3,25	1,56	1,50
14	7,25	7,38	3,97	7,32	1,98	2,88	1,36	1,83
15	6,27	9,60	6,21	7,37	1,44	2,19	1,36	1,72
16	6,27	9,42	6,21	6,46	1,80	2,35	1,00	2,33
17	5,62	—	6,14	5,87	2,04	2,35	1,17	1,72
18	5,62	—	6,14	6,38	2,46	2,71	1,34	2,40
19	2,72	—	—	—	2,35	—	1,90	2,68
20	2,72	—	—	—	2,53	—	2,09	2,60
21	—	—	—	—	—	—	2,61	—
22	—	—	—	—	—	—	2,60	—
23	—	—	—	—	—	—	2,57	—
$\bar{x} \pm$	5,10	7,88	4,47	5,48	2,15	2,24	1,65	1,90
$\pm m$	$\pm 0,32$	$\pm 0,56$	$\pm 0,22$	$\pm 0,24$	$\pm 0,11$	$\pm 0,10$	$\pm 0,13$	$\pm 0,08$
%	100	154 ^x	83 ^x	122 ^{xx}	100	104 ^x	77 ^x	115 ^{xx}
P		<0,01	>0,1	<0,05	—	—	<0,05	>0,1

Примечания: 1, 3 — вводился физиологический раствор;
2, 4 — вводился глутамат натрия;

%^x — сравнение с группами 1;

%^{xx} — сравниваются группы 3 и 4.

Таблица 48

Влияние хронической гипоксии и глутамата на содержание пировиноградной кислоты в миокарде и почках белых крыс (в мм на 100 г ткани)

	С е р д ц е				П о ч к и			
	Норма		Гипоксия		Норма		Гипоксия	
	1	2	3	4	1	2	3	4
I	3,52	1,28	1,20	1,32	1,44	1,54	0,72	0,71
2	2,81	1,07	1,56	1,49	1,44	2,30	1,08	0,71
3	3,30	2,71	1,27	1,16	2,86	2,46	1,99	2,11
4	3,13	2,53	1,46	1,54	2,50	2,11	2,58	0,67
5	1,95	2,48	1,70	1,79	2,09	2,81	0,68	0,84
6	1,88	2,61	1,53	1,79	2,09	2,81	0,85	1,01
7	1,51	1,50	1,36	1,32	1,65	1,06	1,27	1,01
8	-	1,50	1,19	1,12	1,42	1,42	1,27	1,19
9	-	1,55	0,74	0,76	1,76	3,39	1,94	1,70
10	-	-	1,35	1,51	2,65	-	2,64	1,05
11	-	-	0,74	1,89	-	-	1,87	1,40
12	-	-	1,01	-	-	-	2,04	-
M $\pm$	2,58	1,91	1,25	1,42	1,99	2,20	1,57	1,22
$\pm m$	$\pm 0,30$	$\pm 0,21$	$\pm 0,08$	$\pm 0,09$	$\pm 0,16$	$\pm 0,24$	$\pm 0,18$	$\pm 0,13$
%	100	74 ^x	48 ^x	113 ^{xx}	100	110 ^x	78 ^x	77 ^{xx}
P		>0,1	<0,01	>0,1		>0,5	>0,1	>0,1

Примечания: 1,3 - вводился физиологический раствор;

2,4 - вводился глутамат натрия;

%^x - сравнение с группами 1;

%^{xx} - сравниваются группы 3 и 4.

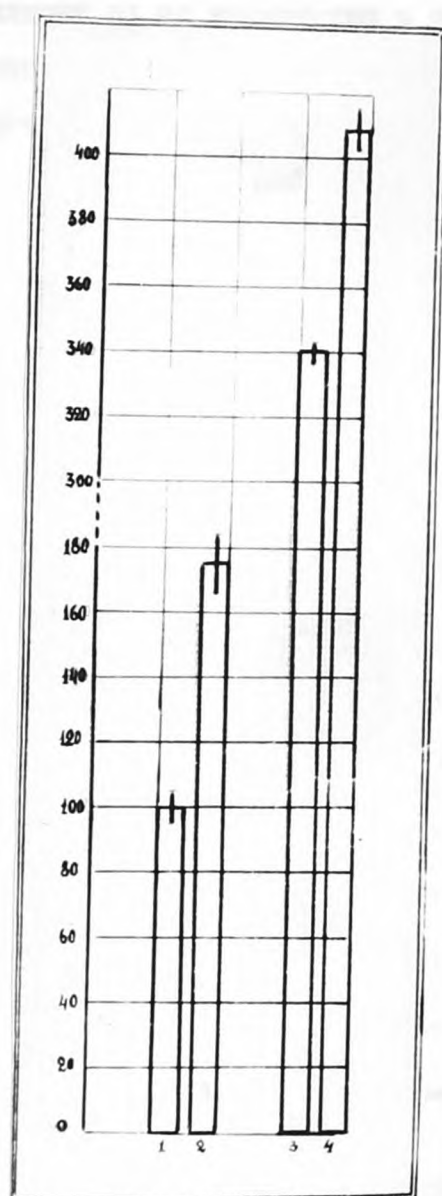


Рис. 67

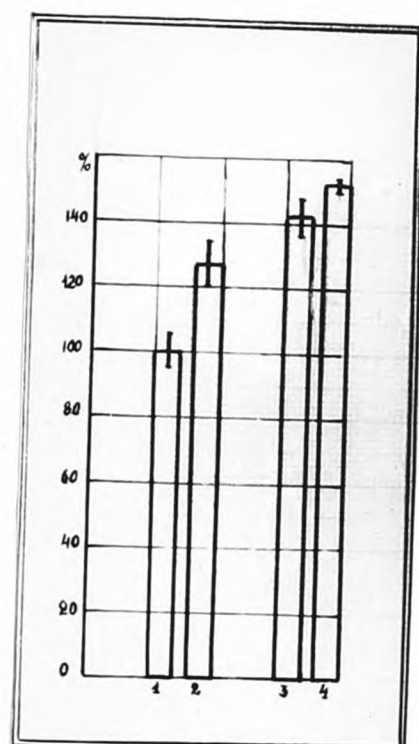


Рис. 68

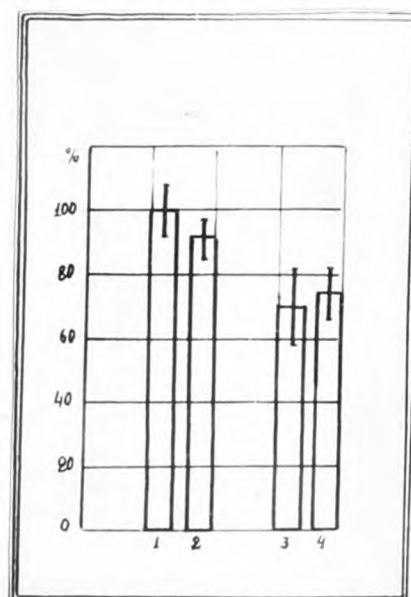


Рис. 69

Влияние острой гипоксии и глутамата натрия на содержание ПВК в крови (рис. 67), печени (рис. 68) и миокарде (рис. 69). Обозначения: норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2); гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4).

ния пирувата в обменные процессы, связанные с восстановлением окисления ПВК в цикле Кребса, а также превращением ее в глюкозу и гликоген (В.Р.Ландау и соавт., 1955; З.И.Барбашова, 1960, 1963).

Глутамат натрия в условиях острой гипоксии (табл. 45, 46, рис. 68-70) повышает концентрацию пирувата в крови на 20% и не влияет на ее количество в печени, почках и сердце. Подобные сдвиги отмечаются и у адаптированных к гипоксии животных, получавших в течение 14 дней глутамат натрия (табл. 47, 48, рис. 71-74).

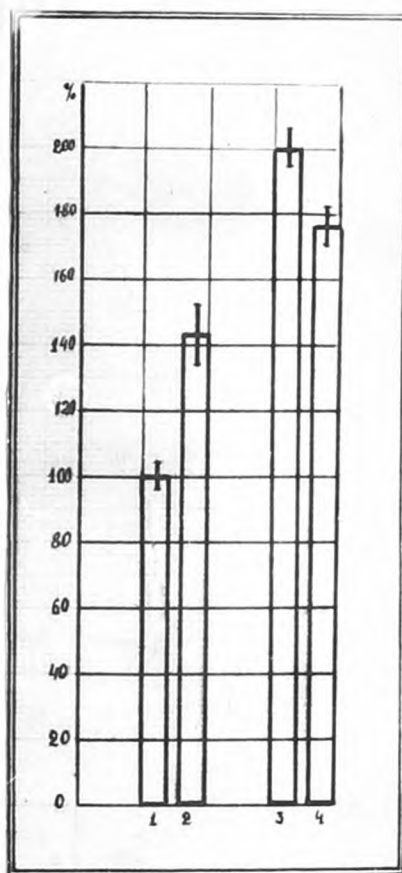


Рис. 70. Влияние острой гипоксии и глутамата натрия на содержание ПВК в почках. Обозначения см. рис. 69.

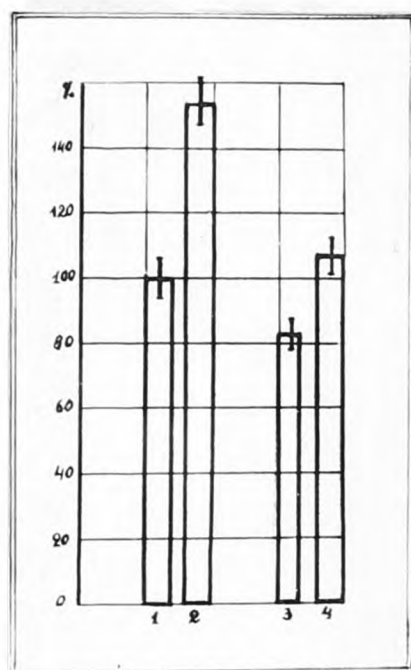


Рис. 71

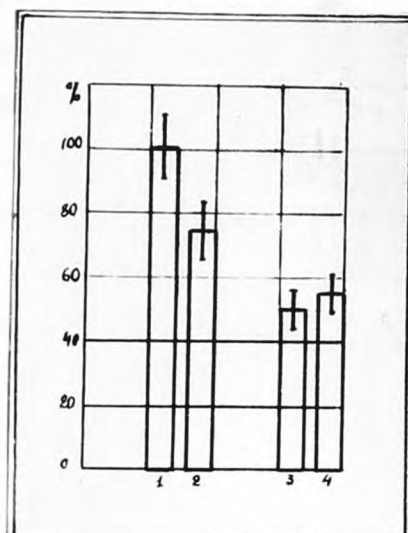


Рис. 72

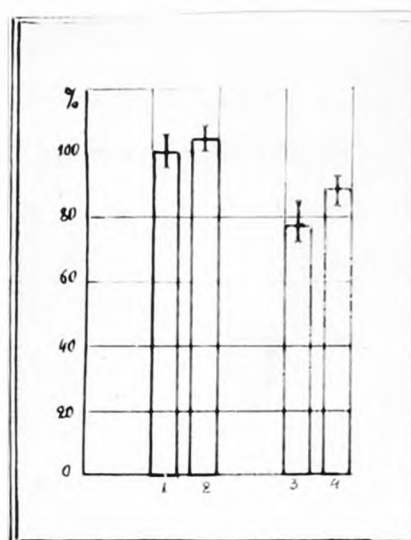


Рис. 73

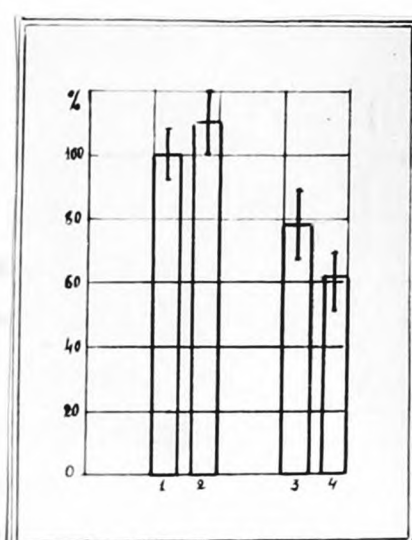


Рис. 74

Влияние хронической гипоксии и глутамата на концентрацию ПФК в крови (рис. 71), печени (рис. 72), миокарде (рис. 73) и почках (рис. 74). Обозначения: норма, вводился физиологический раствор (1) и глутамат натрия (2); гипоксия, вводился физиологический раствор (3) и глутамат натрия (4).

Обращает внимание одинаковая направленность сдвигов в концентрации пирувата при действии острой гипоксии и глутамата в нормальных условиях опытов (табл. 45, 46, рис. 67-70). Острая гипоксия и глутамат в норме повышают количество ПВК в крови, печени и почках. Следовательно, глутаминовая кислота в нормальных условиях оказывает прогипоксическое действие на концентрацию ПВК. В условиях острой гипоксии, когда концентрация ПВК в крови, печени и почках резко возрастает, глутамат не влияет на ее содержание в печени и почках и еще больше увеличивает ее количество в крови.

В литературе имеется мнение о том, что глутамат и некоторые другие аминокислоты могут служить источником образования пирувата (С.Е.Северин, 1962; Л.К.Вфимова, 1969; С.Р.Ибоян, 1969). Превращение глутамата в пируват происходит при окислении его в цикле Кребса до малата и декарбоксилирования последнего с образованием пировиноградной кислоты (М.Ф.Гулый, 1968). Не исключена также возможность увеличения пировиноградной кислоты за счет стимуляции глутаминовой кислотой глюконеогенеза (R.Marcus, G.Reaven, 1967). Скорее всего с указанными механизмами связано повышение ПВК в крови, печени и почках при введении глутамата животным, находившимся в нормальных условиях. Отсутствие изменений в концентрации ПВК в печени, сердце и почках под действием глутамата при острой гипоксии, по-видимому, связано с тем, что в условиях кислородного голодания глутаминовая кислота стимулирует окисление НАД-зависимых субстратов, в том числе и пирувата. Помимо этого, как показано рядом авторов, глутаминовая кислота при гипоксии способствует синтезу гликогена в печени и мышцах (Н.А.Удинцев, 1960; М.А.Добринская, 1962). Поэтому пируват частично используется и в этих реакциях.

Есть все основания предполагать, что глутаминовая кислота в условиях гипоксии не только стимулирует реакции синтеза пировиноградной кислоты, о чем свидетельствуют активация глутаматом лактат

дегидрогеназы и уменьшение количества молочной кислоты (Ю.М.Гейфтер и соавт., 1962; И.И.Евнина, 1970), но и в значительной мере активирует различные пути утилизации пирувата.

Анализ результатов, представленных в данной главе, показывает, что острая гипоксия сопровождается резким увеличением концентрации ряда кислот цикла Кребса в крови. Так, количество пировиноградной кислоты увеличивается почти в 3,5 раза, цитратовой и α -кетоглутаровой кислот — более чем в 2 раза. В учебной и научной литературе широко распространено мнение о том, что кислородный долг организма определяется избытком молочной кислоты, который образуется при гипоксии. При этом совершенно не учитывалась возможность накопления метаболитов цикла Кребса.

Исследованиями А.П.Валова (1970) показано, что в аналогичных с нашими условиями опытов концентрация молочной кислоты составляет 480 мкм на 100 мл крови. В наших исследованиях суммарное количество пирувата, ЦУК, сукцината и α -кетоглутаровой кислоты равно 156 мкм на 100 мл крови. Эти результаты показывают, что значительная часть (более 30%) кислородной задолженности организма в условиях гипоксии обусловлена увеличением концентрации ПВК, ЦУК, ЯК и α -КГЛ.

Следует обратить внимание на значительную разницу в концентрации указанных кислот в крови и органах животных, перенесших острую гипоксию (табл. 49).

Таблица 49

Концентрация ПВК, α -КГЛ, ЦУК и янтарной кислоты в крови печени, миокарде и почках белых крыс, перенесших острую гипоксию (в мкм на 100 г ткани)

Органы	ПВК	ЦУК	α -КГЛ	Сукцинат в мкм на 1 г
Кровь	10,88 $\pm$ 0,40	4,34 $\pm$ 0,28	8,88 $\pm$ 0,60	1,32 $\pm$ 0,04
Печень	3,10 $\pm$ 0,19	2,27 $\pm$ 0,11	3,08 $\pm$ 0,13	9,21 $\pm$ 0,36
Сердце	1,64 $\pm$ 0,10	2,02 $\pm$ 0,30	1,43 $\pm$ 0,11	5,84 $\pm$ 0,40
Почки	3,05 $\pm$ 0,21	1,52 $\pm$ 0,03	3,48 $\pm$ 0,25	5,68 $\pm$ 0,30

Концентрация пировиноградной, павелевоуксусной и α -кетоглутаровой кислот в крови соответственно выше в 3,5 - 6,0; 1,9 - 2,8; 2,5 - 6,2 раза, чем в печени, миокарде и почках. Более высокая разница в количестве указанных кислот выявлена между их содержанием в крови и миокарде. Такие различия в количественном содержании кислот в органах и крови, очевидно, обусловлены усилением образования ПВК, ЩУК и α -КГЛ в крови при острой гипоксии, а также утилизацией кислот органами и частичным выходом их из тканей в кровь.

Противоположные сдвиги в количестве янтарной кислоты определяются в крови и органах. При этом следует подчеркнуть, что гипоксия не влияет на содержание сукцината в крови и вызывает значительное увеличение его концентрации в печени и почках (табл. 34, 35, рис. 44-47). Отсутствие изменений в содержании янтарной кислоты в крови животных, перенесших острую гипоксию, по-видимому, можно объяснить тем, что образование сукцината в крови маловероятно из-за отсутствия в ней ферментных систем, которые катализируют реакции синтеза янтарной кислоты. В тканях же, особенно в митохондриях, содержится около 10 различных ферментных комплексов, которые осуществляют синтез янтарной кислоты (М.Н.Кондрашова, 1971). Возможно также накопление янтарной кислоты в тканях против градиента концентраций. Учитывая важное значение янтарной кислоты в метаболических процессах организма (R.W.von Korf, 1965, 1967; Д.Дэвис и соавт., 1966; G.Schäfer и соавт., 1967), особенно в энергетическом обмене в восстановительный период после нагрузки (М.Н.Кондрашова, 1969, 1969а), увеличение концентрации сукцината в печени и почках можно расценивать как защитную реакцию организма к острой гипоксии.

Введенный в организм глутамат в условиях гипоксии по-разному влияет на концентрацию янтарной кислоты в печени и почках. Если

в печени после введения глутамата количество сукцината увеличивается, то в почках происходит снижение концентрации янтарной кислоты до уровня контроля.

Следовательно, глутаминовая кислота в печени оказывает прогипоксическое, а в почках противогипоксическое действие на концентрацию янтарной кислоты. В печени глутаминовая кислота усиливает естественную реакцию организма на гипоксию (повышает концентрацию сукцината), в почках — снижает гипоксическое увеличение янтарной кислоты.

Аналогичное влияние оказывает глутамат на концентрацию пировиноградной и α -кетоглутаровой кислот в крови, печени и почках (рис. 68-70). У животных после острой гипоксии увеличивается содержание ПВК и α -КГЛ в крови и печени, глутамат еще больше увеличивает их концентрацию, оказывая прогипоксическое действие. В почках глутаминовая кислота препятствует гипоксическому увеличению пировиноградной и α -кетоглутаровой кислот, оказывая нормализующее действие на их концентрацию в указанном органе.

По мнению М.Н.Кондраховой и соавт. (1971), вещества, повышающие устойчивость организма к гипоксии, по механизму действия делятся на две группы. Одна группа веществ усиливает ответные реакции организма на гипоксию, другая — препятствует гипоксическим изменениям в обмене веществ. Поэтому прогипоксическое и противогипоксическое действие глутаминовой кислоты способствует усилению резистентности организма к гипоксии.

В процессе адаптации животных к недостатку кислорода происходит снижение концентрации ПВК в крови, печени и почках (рис. 71-74), что свидетельствует об усилении окисления ПВК в организме. При этом глутамат не влияет на содержание пирувата в указанных тканях.

Специфично изменяется концентрация кислот в миокарде при

острой и хронической гипоксии. Если после острой гипоксии в крови, печени и почках увеличивается концентрация ПВК, то в миокарде выявляется значительное снижение ее содержания. У адаптированных к гипоксии животных в сердце определяется понижение количества пирувата и сукцината. Резко уменьшается количество ЦУК в сердечной мышце при острой гипоксии (табл. 42). Снижение концентрации ЦУК должно сопровождаться уменьшением количества сукцината, однако концентрация янтарной кислоты в миокарде такая же, как в контроле (табл. 35).

Сравнение абсолютных концентраций показывает, что ЦУК в миокарде при острой гипоксии в среднем содержится 20 мкм, а сукцината 58 мкм. Следовательно, янтарной кислоты содержится почти в 3 раза больше, чем ЦУК. Подобные концентрационные отношения определяются в печени и почках.

Известно (А.Д.Виноградов, 1968; W.R. Zeilemaker и соавт., 1969), что щавелевоуксусное торможение окисления сукцината происходит при концентрациях ЦУК с $K_m = 1-4$ мкм. В наших опытах концентрация ЦУК в миокарде при острой кислородной недостаточности находится выше указанных пределов. При такой ситуации следовало ожидать ингибирования СДГ и накопления янтарной кислоты в миокарде. Однако этого не происходит. Такие "полюсности" в содержании ЦУК и сукцинатдегидрогеназной активности в миокарде обусловлены, по-видимому, тем, что концентрация янтарной кислоты почти в 3 раза выше, чем ЦУК. В опытах *in vitro* А.Д.Виноградовым (1968) показано, что скорость реакции янтарной кислоты с сукцинатдегидрогеназой выше, чем со ЦУК. Поэтому янтарная кислота, выигрывая конкуренцию за фермент, окисляется в миокарде с большой скоростью. Об этом же свидетельствует высокая активность СДГ при острой гипоксии (табл. 21, рис. 24). Тогда возникает закономерный вопрос: почему не происходит снижение сукцината в миокарде? Как указывалось выше, при различных воздействиях на организм, в том числе и гипоксии, происходит усиленное

образование сукцината в тканях. По всей вероятности, фонд сукцината пополняется вследствие стимуляции тех многочисленных реакций, которые являются поставщиками янтарной кислоты. Последнее положение подтверждается нашими экспериментами. В условиях гипоксии синтез янтарной кислоты в значительных количествах может происходить за счет восстановления ПУК. Возможность реализации указанного пути ресинтеза сукцината подкрепляется нашими результатами, показавшими снижение концентрации ПУК в миокарде на 56%. Образование янтарной кислоты из α -кетоглутарата имеет меньшее значение, так как снижение концентрации указанной кислоты в миокарде происходит в небольшом количестве.

Полученные результаты подтверждают исследования последних лет (М.Н.Кондрашова, 1968-1972), которыми показана важная роль янтарной кислоты в адаптации организма к воздействию гипоксии и других факторов внешней среды.

Резюмируя изложенное, можно сделать заключение о том, что острая гипоксия сопровождается увеличением концентрации ПВК и α -КГЛ в крови, печени и почках, сукцината - в печени и почках и ПУК - в крови. При этом содержание пирувата, ПУК и α -КГЛ в миокарде снижается. При адаптации к гипоксии происходит нормализация количества исследуемых кислот в крови, увеличение ПУК и сукцината в почках, α -КГЛ в миокарде и снижение количества пирувата в печени, миокарде и почках, α -КГЛ в почках и сукцината в сердечной мышце.

Глутамат натрия в условиях острой гипоксии оказывает прогипоксическое действие на концентрацию ПВК и α -КГЛ в крови, печени и почках, сукцината в печени и α -КГЛ в миокарде и прогипоксическое действие на концентрацию сукцината в почках. Длительное введение рег. ос. глутамата в процессе адаптации к гипоксии не влияет на концентрацию ПВК, ПУК, α -КГЛ и сукцината в крови, печени, миокарде и почках.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Решение многих актуальных проблем биологии, а также выяснение патогенеза различных заболеваний связано с необходимостью изучения тех сдвигов в метаболических процессах организма, в частности изменений аэробных тканевых окислительных процессов, которые являются следствием недостатка кислорода в организме. Гипоксия — спутник многих патологических состояний. Она возникает при поражении легких, сердечно-сосудистой системы, при угнетении ферментов тканевого дыхания различными ядами и других нарушениях физиологических функций организма. Актуальность гипоксической проблемы с особой очевидностью подчеркивается теми задачами, которые призваны решать авиационная медицина и космическая биология.

Исследования, проведенные с использованием современных полярнографических методов определения концентрации кислорода, показали, что снабжение тканей организма кислородом зависит от многих факторов внешней и внутренней среды организма: от концентрации кислорода во вдыхаемом воздухе и от состояния дыхательной и сердечно-сосудистой систем (Е.А.Коваленко, 1966, 1972; Г.Х.Лазиди и соавт., 1972; Е.А.Маркарова, Л.П.Огий, 1972; А.И.Назаренко, 1972; В.Л.Полков и соавт., 1972; Г.В.Трошихин, Л.И.Исаакян, 1972), от количественного и качественного состава эритроцитов и гемоглобина (З.И.Барбашова и соавт., 1971; В.М.Войткевич, 1971; Е.Ф.Котовский, Л.Л.Шимкевич, 1971), от скорости доставки и потребления кислорода тканями (В.А.Березовский, 1972; В.Н.Саноцкая, 1972; А.П.Ястребов, 1972), от времени года (Н.А.Верболович, В.П.Верболович, 1972) и других факторов.

Из всех субклеточных структур самыми чувствительными к недостатку кислорода являются митохондрии. Они первыми реагируют на

дефицит кислорода в организме изменением своего функционального и морфологического состояния (М.Н.Кондрашова, 1968-1971; Р.А.Тигро-
нян, 1972).

Наиболее существенная перестройка в реакциях аэробных окислительных процессов происходит тогда, когда концентрация кислорода в тканях становится "критической" и колеблется на уровне 5 мм рт. столба. При такой ситуации снабжение митохондрий кислородом резко ограничивается, вызывая повреждение ферментных систем тканевого дыхания и в первую очередь нарушение энергетического обмена в организме (Б.А.Коваленко, 1966, 1972; А.В.Ряжский, Б.Ф.Семенов, 1972).

Пребывание животных на "высоте" 8000 м сопровождается падением концентрации кислорода в тканях от 6 до 1,6 мм рт.ст. (Б.А.Коваленко, 1966, 1966а, 1972; В.Л. Попков, 1972), то есть колеблется в пределах критической концентрации.

В наших опытах острую гипоксию вызывали пребыванием крыс на "высоте" 8000 м. Таким образом, животные находились в условиях жесткого кислородного режима, который не мог не оказать влияния на ферментные системы митохондрий.

Результаты наших опытов, посвященных влиянию острой гипоксии на активность ферментов и тканевое дыхание в митохондриях, показали, что острый дефицит кислорода в организме неодинаково влияет на изменение активности ферментов в митохондриях разных органов. Наиболее сильные сдвиги в энзиматических процессах происходят в митохондриях печени и почек. В митохондриях миокарда активность большинства изученных ферментов сохраняется на уровне контроля.

Сопоставление активности ферментов с количественным содержанием ряда метаболитов цикла Кребса в миокарде свидетельствует о высокой скорости окислительных процессов в сердечной мышце при острой гипоксии. В митохондриях сердца сохраняется активность СДГ

и НАД-зависимых дегидрогеназ и происходит снижение концентрации ПВК, α -КГЛ и ЦУК, что свидетельствует об усилении их окисления в миокарде при дефиците кислорода в организме.

Обращает внимание неодинаковая направленность сдвигов в активности СДГ и НАД-зависимых дегидрогеназ в митохондриях печени и почек. У животных, перенесших острую гипоксию, активность сукцинатдегидрогеназного комплекса в митохондриях почек остается высокой и находится на уровне контроля, а в гранулах печени происходит стимуляция сукцинатдегидрогеназной активности. Напротив, активность ГДГ и МДГ в митохондриях печени и почек, НАДН:цитохром С-оксидоредуктазы и цитохромоксидазы в митохондриях печени снижается в постгипоксический период. Такие "ножницы" в сдвиге активности СДГ и НАД-зависимых дегидрогеназ свидетельствуют о преобладании окисления янтарной кислоты по сравнению с НАД-зависимыми субстратами (глутаматом, малатом и НАДН в наших опытах) в условиях острой гипоксии. Однако постгипоксическая стимуляция активности СДГ не сопровождается снижением концентрации янтарной кислоты в печени и почках. Наоборот, после острой гипоксии в этих органах определяется повышение концентрации сукцината.

Одновременное повышение активности СДГ и концентрации янтарной кислоты в печени и почках и явная тенденция к повышению СДГ в миокарде свидетельствуют о преобладании синтеза над окислением сукцината при гипоксии.

Известно, что при недостатке кислорода в организме наиболее мощным механизмом образования сукцината является восстановительный синтез ее из ЦУК (М.Н. Кондрашова, 1971). В условиях низкого парциального давления кислорода создаются благоприятные условия для синтеза ЦУК путем карбоксилирования пирувата и фосфоэнолпирувата (Н.А. Lardy, Г. Adler, 1956; Е. Davis, 1968). Осуществлению указанных реакций способствует гипоксическое увеличение concentra-

ции пирувата и углекислого газа (М.И. Прохорова и соавт., 1957, 1965; W.R. Mc Clure, H. Lardy, 1971). В наших опытах в печени и почках после острой гипоксии выявляется повышение в 1,5 - 2 раза количества пировиноградной кислоты (глава 5), что создает условия для синтеза ЩУК из пирувата при гипоксии.

Обращению цикла Кребса при гипоксии путем восстановления ЩУК в сукцинат способствует увеличение концентрации восстановленных пиридиннуклеотидов и углекислого газа (М.Н. Кондрашова, 1971). Подтверждением возможности синтеза янтарной кислоты в данных реакциях являются наши результаты, где определялось содержание ЩУК в крови, печени, миокарде и почках крыс после пребывания их в условиях гипоксии. При недостатке кислорода в организме концентрация ЩУК в крови увеличивается более чем в 2 раза, однако в печени такого увеличения нет, а в почках и миокарде содержание щавелевоуксусной кислоты снижается. Возможно, что одной из причин меньшего количества ЩУК в органах по сравнению с ее концентрацией в крови является превращение щавелевоуксусной кислоты в сукцинат.

Не меньшее значение как источник синтеза янтарной кислоты по сравнению со ЩУК имеет α -кетоглутаровая кислота. Этот путь образования сукцината при острой гипоксии вполне реален, поскольку содержание янтарной кислоты в печени и почках увеличивается параллельно с ростом концентрации α -кетоглутарата в этих органах (глава У, рис. 45, 47, 52, 54).

Учитывая данные литературы о значении сукцинатдегидрогеназного комплекса в приспособительных реакциях организма к воздействиям различных факторов внешней среды на организм, мы склонны расценивать увеличение активности СДГ и концентрации янтарной кислоты как активную защитную реакцию организма в ответ на острую тканевую гипоксию.

Что касается снижения активности НАД-зависимых дегидрогеназ при острой кислородной недостаточности, то оно происходит в результате дефицита окисленных форм НАД, а также за счет выхода ряда НАД-связанных ферментов из митохондрий вследствие гипоксического повреждения их структуры (D.Green и соавт., 1963; P.Malek и соавторы, 1970; А.А.Покровский и соавт., 1971). Увеличение концентрации восстановленных форм НАД и количества АДФ при гипоксии является общепризнанным. В литературе имеются работы, которыми показано ингибирующее влияние восстановленных пиридиннуклеотидов (L.Cornman, N.O.Karlan, 1965) и АДФ (F.G.Lehmann, 1969) на активность НАД-зависимых дегидрогеназ.

Следовательно, снижение активности НАД-зависимых дегидрогеназ при острой гипоксии происходит в результате конкуренции за ферменты дыхательной цепи между СДГ и НАД-связанными дегидрогеназами, которую выигрывает СДГ, как следствие дефицита окисленного НАД, а также в связи с выходом ряда НАД-зависимых ферментов и самого НАД из митохондрий.

Морфологические изменения в структуре митохондрий при гипоксии сопровождаются определенными сдвигами в характере окислительного фосфорилирования.

Полярнографическое определение дыхания в митохондриях, выделенных из печени крыс, перенесших острую гипоксию, показало увеличение скорости дыхания без акцептора фосфата и после полного фосфорилирования добавленного АДФ, что свидетельствует о разобщении дыхания с фосфорилированием. Указанные результаты подтверждаются данными опытов по влиянию острой гипоксии на активность ДНФ-активируемой АТФ-азы. Установлено, что острая кислородная недостаточность сопровождается снижением активности ДНФ-активируемой АТФ-азы в митохондриях печени, сердца и почек.

ДНФ-зависимая АТФ-аза участвует в реакциях окислительного

фосфорилирования, и ее активность пропорциональна фосфорилирующему окислению (C. Cooper и соавт., 1955; V. Chance, 1957; C. L. Wadkins, 1964; A. M. Толейкис и соавт., 1971; Е. М. Хватова и соавт., 1971). Уменьшение активности ДНФ-стимулируемой АТФ-азы при острой гипоксии с учетом результатов полярографической регистрации дыхания свидетельствует о гипоксическом угнетении фосфорилирующего и стимуляции свободного окисления в митохондриях. Указанные изменения в окислительном фосфорилировании являются следствием морфологических изменений в структуре митохондрий при гипоксии.

Адаптация крыс к гипоксии в барокамере ("высота" - 6000 м) по 6 часов в день в течение двух недель приводит к нормализации, а в ряде случаев к стимуляции активности НАД-зависимых дыхательных ферментов. У животных этой серии опытов, наряду с общими направлениями в изменении активности ферментов, указанными выше, имеются свои особенности для печени, сердца и почек.

Так, в митохондриях печени сниженный уровень активности НАД-зависимых дегидрогеназ при острой гипоксии восстанавливается в период адаптации к низкому парциальному давлению кислорода. При этом активность сукцинатдегидрогеназы, как и при острой гипоксии, остается повышенной, однако активность цитохром С-оксидазы несколько ниже, чем в контроле.

Нормализация активности НАД-активируемых дегидрогеназ в митохондриях печени является одной из причин снижения количества пирувата и α -кетоглутарата до уровня контроля. При острой гипоксии концентрация этих кетокислот в печени почти в 1,5 раза превышала уровень у контрольных животных. У животных, адаптированных к низкому парциальному давлению кислорода, несколько увеличено окисление сукцината, о чем свидетельствуют стимуляция активности СДГ и снижение концентрации сукцината в печени.

В миокарде, где при острой гипоксии активность ГДГ, НАДН:цитохром С-редуктазы и цитохром С-оксидазы оставалась на уровне контроля, а активность МДГ и СДГ стимулировалась, после адаптации к низкому парциальному давлению кислорода выявляются аналогичные сдвиги. Одинаковая реакция митохондриальных ферментов сердца при острой и хронической гипоксии свидетельствует о высокой резистентности митохондрий этого органа к воздействию гипоксии. Увеличение активности митохондриальной малатдегидрогеназы и СДГ в обоих случаях носит компенсаторный характер. Указанные сдвиги в активности ферментов имеют свое отражение в изменении концентрации кислот цикла Кребса, что особенно характерно при хронической гипоксии. В этих условиях опытов в миокарде в 2 раза снижается концентрация пирувата и на 38% — содержание янтарной кислоты, однако количество α -КГЛ увеличивается на 40%. Эти результаты свидетельствуют об усилении утилизации пирувата и янтарной кислоты и замедлении использования α -КГЛ. По-видимому, уменьшение количества янтарной кислоты происходит в связи с активацией СДГ, усилением окисления сукцината в миокарде, а также в результате ингибирования одного из основных путей синтеза сукцината из α -КГЛ, о чем свидетельствует увеличение концентрации последнего. При такой ситуации основным поставщиком сукцината может быть восстановительный ресинтез ее из ШУК, что подтверждается высокой активностью МДГ, которая определялась в реакции восстановления ШУК, и тенденцией к снижению концентрации ШУК на 10% ($p > 0,05$). Кроме того, это может происходить при реализации глиоксилатного цикла (М.Н.Кондрашова, М.А.Родионова, 1971а). Очевидно, что скорость синтеза янтарной кислоты меньше скорости ее окисления, поэтому концентрация сукцината в миокарде снижается.

Усиленный расход пировиноградной кислоты, вероятно, осуществ-

ляется в результате ее окисления через начало цикла Кребса до α -кетоглутарата, путем карбоксилирования в ШУК и превращения последней в сукцинат и за счет вовлечения в глиоксилатный цикл. Гипертрофия указанных реакций, по-видимому, является основной причиной снижения концентрации пирувата в миокарде.

Таким образом, анализ результатов показывает, что увеличение активности СДГ и количества α -КГЛ и уменьшение концентрации янтарной кислоты свидетельствуют о преимущественном окислении сукцината в миокарде адаптированных к гипоксии животных.

Несколько своеобразные сдвиги в активности ферментов и концентрации кислот лимоннокислого цикла выявляются в почках адаптированных к гипоксии животных. Если при острой гипоксии в митохондриях этого органа МДГ и ГДГ ингибировались, то у адаптированных к гипоксии животных активность этих ферментов и НАДН:цитохром С-оксидазы повышалась. С изменением активности ферментов коррелируется концентрация кислот цикла Кребса. При этом следует подчеркнуть, что между активностью ферментов и концентрацией кислот имеются реципрокные взаимоотношения. При острой гипоксии содержание α -КГЛ и ПВК увеличивается почти в 1,5 раза, а при хронической уменьшается на 33 и 22% соответственно.

В опытах с хронической гипоксией любопытные сдвиги наблюдаются в концентрации ШУК и сукцината. Количественное содержание обеих кислот в почках увеличивается. В связи с увеличением концентрации ШУК окисление янтарной кислоты, по-видимому, замедляется и увеличивается ее содержание. В создавшемся положении происходит преимущественное окисление НАД-зависимых субстратов, о чем свидетельствует увеличение активности ГДГ, МДГ и НАДН:цитохром С-редуктазы и уменьшение концентрации ПВК и α -КГЛ.

Полярнографическое определение дыхания в митохондриях печени адаптированных к дефициту кислорода животных с использованием в

качестве субстрата окисления янтарной кислоты показало увеличение скорости дыхания без акцептора фосфата, что свидетельствует о разобщении окисления с фосфорилированием. Однако это разобщение не является глубоким, поскольку стимуляция дыхания в третьем метаболическом состоянии увеличивает скорость фосфорилирования АДФ в АТФ на 38%. Увеличение скорости дыхания в активном состоянии (v_3) и стимуляция фосфорилирования АДФ в АТФ выявляется и на глутамате.

Такое функциональное состояние митохондрий, когда имеется мягкое разобщение дыхания с фосфорилированием, которое сопровождается стимуляцией скорости фосфорилирования АДФ в АТФ в результате увеличения скорости дыхания в третьем метаболическом состоянии, удачно названо М.Н. Кондрашовой (1971) "лабильно сопряженным состоянием". Лабильно сопряженные митохондрии, несмотря на разобщение окисления с фосфорилированием, способны в единицу времени синтезировать большое количество АТФ. Такой сдвиг в функциональном состоянии митохондрий у адаптированных к гипоксии животных является полезным компенсаторным механизмом, способствующим улучшению энергетического обмена при хроническом недостатке кислорода в организме.

О разобщении дыхания с окислением у адаптированных к гипоксии животных свидетельствует также ингибирование активности ДНФ-стимулируемой АТФ-азы в митохондриях печени, сердца и почек. При острой гипоксии получены аналогичные результаты. На первый взгляд кажется, что никаких изменений в окислительном фосфорилировании в процессе адаптации к гипоксии не происходит. Однако более глубокий анализ позволяет выявить ряд деталей, которые ускользают из поля зрения при недостаточно глубоком анализе.

Как отмечалось выше, ДНФ-стимулируемая АТФ-аза имеет большую активность в прочно сопряженных митохондриях, поэтому по активности ДНФ-стимулируемой АТФ-азы можно судить о степени сопряженности дыхания с фосфорилированием. Сравнение абсолютных величин активно-

сти указанной АТФ-азы в митохондриях сердца и почек показывает, что у адаптированных к гипоксии животных она выше, чем у крыс, находившихся в условиях острой гипоксии (табл. 19, 20, 28). Если после острой гипоксии активность ДНФ-стимулируемой АТФ-азы равна в митохондриях сердца и почек 9,97 и 7,59 мКАР, то у адаптированных к дефициту кислорода животных эти величины составляют 12,5 и 11,1 мКАР соответственно. Приведенные результаты свидетельствуют о том, что у адаптированных к гипоксии животных фосфорилирующее дыхание в митохондриях более выражено, чем после острой гипоксии. Об увеличении сопряженности дыхания с фосфорилированием свидетельствуют большая разность между активностью Mg^{2+} и ДНФ-стимулируемыми АТФ-азами в митохондриях, выделенных из органов адаптированных и неадаптированных к гипоксии животных (табл. 29), а также уменьшение скорости дыхания без АДФ (V_4 до) и после полного фосфорилирования АДФ в АТФ (V_4) в митохондриях печени при хронической гипоксии по сравнению с острым кислородным голоданием. При этом после острой гипоксии V_4 до составляет 127% и V_4 - 124%, а у адаптированных к гипоксии животных - соответственно 118 и 100% по отношению к контролю (табл. 6, 22).

Одной из форм кислородного голодания является гистотоксическая гипоксия, которую вызывает кобальт в тканях организма. Длительное введение кобальта в организм сопровождается сдвигами в окислительных процессах печени, аналогичными тем, что происходят при хронической гипоксии. Увеличение скоростей дыхания без АДФ (V_4 до) и после фосфорилирования АДФ в АТФ (V_4), снижение дыхательных контролей по Чансу и Ларди и коэффициента АДФ:О при использовании в качестве субстратов дыхания сукцината и глутамата дают возможность сделать вывод о разобщающем действии длительного введения кобальта на окислительное фосфорилирование митохондрий печени.

При этом возникает энергетический дефицит в результате снижения скорости фосфорилирования АДФ в АТФ (табл. 30, 31). Кроме того, кобальт ингибирует активность цитохрома С-оксидазы в митохондриях печени. Об однотипности действия кобальта и хронической гипоксии свидетельствует выраженная полицитемия в крови крыс при обоих воздействиях. Увеличение количества гемоглобина, эритроцитов и ретикулоцитов в крови является адаптационным механизмом организма к воздействию указанных факторов внешней среды.

Одной из актуальных проблем медицины является изыскание новых препаратов, способствующих резистентности организма к кислородному голоданию. Одним из таких средств является глутаминовая кислота. Однако действие глутамата на адаптационные к гипоксии механизмы расшифровано далеко не полностью. Данные литературы и предыдущие собственные исследования дают основание предполагать, что указанное действие глутамата обусловлено его активным участием в аэробных энергетических процессах организма.

Исследования влияния глутаминовой кислоты на активность ферментов цикла Кребса и тканевого дыхания при гипоксии подтверждают высказанное предположение.

В условиях острой гипоксии предварительные инъекции глутамата перед помещением крыс в барокамеру стимулируют сукцинатдегидрогеназную активность в митохондриях печени, сердца и почек. Повышение активности СДГ неодинаково изменяет концентрацию янтарной кислоты в печени, миокарде и почках. В печени под влиянием глутамата содержание янтарной кислоты увеличивается, в сердечной мышце — не изменяется и в почках — уменьшается.

Концентрация метаболитов цикла Кребса зависит от скорости синтеза и окисления их в тканях организма. В указанных органах динамическое равновесие между образованием и использованием янтарной

кислоты устанавливается на различных уровнях. В печени равновесие устанавливается на более высоком уровне, в миокарде — на уровне контроля, а в почках — на более низком уровне.

Анализ изменений активности ферментов, участвующих в синтезе сукцината, в частности ГДГ и МДГ (напомним, что активность МДГ определялась по восстановлению ШУК), показывает, что под влиянием глутамата активность ГДГ по отношению к интактным животным максимально стимулируется в митохондриях сердца (31%), менее выражено — в печени (21%) и не изменяется в почках. Аналогичные сдвиги выявлены и в активности МДГ.

Определенная взаимосвязь существует между активностью ГДГ, МДГ и концентрацией α -КГЛ и ШУК. С увеличением активности ГДГ повышается концентрация КГЛ. Такие сдвиги имеют место в миокарде (23%) и печени (95%). В почках, где активность ГДГ остается на уровне контроля, количественное содержание α -КГЛ не изменяется. Несмотря на то, что активность ГДГ в митохондриях сердца выше, чем в печени, концентрация α -КГЛ в миокарде ниже. Очевидно, что α -КГЛ в сердечной мышце окисляется с большей скоростью, чем в печени, а следовательно, и больше синтезируется янтарной кислоты. Более мощным является и второй путь синтеза сукцината в миокарде, чем в печени. Об усилении синтеза янтарной кислоты в реакциях восстановления ШУК свидетельствует не только активация МДГ, но и уменьшение концентрации щавелевоуксусной кислоты, которое в сердечной мышце более выражено, чем в печени. Оба указанные пути синтеза сукцината более выражены в сердечной мышце. Следовало ожидать увеличения концентрации янтарной кислоты в миокарде. Однако этого не происходит. Низкий уровень ШУК (42% по отношению к интактным крысам) открывает путь для быстрого окисления янтарной кислоты в митохондриях сердца. Несмотря на стимулирующее влияние глутаминовой кислоты на активность СДГ, концентрация янтар-

ной кислоты в миокарде находится на уровне контрольной группы.

В печени реакции синтеза преобладают над реакциями, потребляющими янтарную кислоту, поэтому концентрация сукцината в ней увеличивается, несмотря на стимуляцию СДГ и увеличение окисления его в митохондриях. О стимулирующем влиянии глутамата на окисление янтарной кислоты свидетельствуют также опыты, в которых определялось тканевое дыхание в митохондриях печени с использованием в качестве субстрата дыхания янтарной кислоты (табл. 7).

В почках, где глутаминовая кислота не влияет на активность ферментов, производящих янтарную кислоту, и стимулирует активность СДГ, концентрация янтарной кислоты снижается.

Длительное введение глутаминовой кислоты в процессе адаптации животных к гипоксии повышает активность СДГ в митохондриях печени, почек и сердца (табл. 21). Из реакций, воспроизводящих янтарную кислоту, активируется глутаматдегидрогеназная реакция в печени и сердце и малатдегидрогеназная — в сердце. Каких-либо изменений в концентрации α -КГЛ сукцината и ПЖК в печени, миокарде и почках у адаптированных к кислородному голоданию животных глутамат не вызывает по сравнению с крысами, находившимися в тех же условиях опытов, но не получавших глутамат.

По-видимому, в процессе адаптации к гипоксии и при длительном введении глутамата ферментные системы организма приспособляются к воздействию обоих факторов, что приводит к стабилизации концентрации метаболитов цикла Кребса на уровне, который мы наблюдаем у адаптированных к дефициту кислорода крыс, получавших физиологический раствор вместо глутаминовой кислоты.

Уровень метаболитов цикла Кребса у акклиматизированных к дефициту кислорода крыс иной по сравнению с контрольными животными:

снижается количество ПВК в печени, миокарде и почках, янтарной кислоты — в печени и в сердечной мышце, Δ -КГЛ — в почках и повышается количество ЦУК и сукцината в почках. Отсутствие изменений в концентрации метаболитов цикла Кребса под влиянием глутаминовой кислоты еще не говорит о том, что глутамат не влияет на интенсивность окислительных процессов в организме адаптированных к гипоксии животных. Стимуляция глутаминовой кислотой СДГ и реакций, воспроизводящих янтарную кислоту, при неизменном низком уровне сукцината свидетельствует о том, что под действием этой аминокислоты происходит усиление окисления янтарной кислоты в тканях адаптированных к кислородному голоданию животных.

Таким образом, в условиях острого и хронического кислородного голодания введенный в организм глутамат стимулирует СДГ и реакции, воспроизводящие янтарную кислоту. Учитывая данные литературы о роли сукцината в формировании ответной реакции организма к различным экстремальным воздействиям (М.Н. Кондрашова, 1969, 1971), мы полагаем, что усиление окисления янтарной кислоты под влиянием глутамата является адаптогенным. При этом следует подчеркнуть, что глутаминовая кислота оказывает прогипоксическое действие на активность СДГ, усиливая гипоксическую стимуляцию окисления янтарной кислоты. Однако в действии глутамата и гипоксии имеется существенная разница в том, что гипоксия угнетает некоторые реакции синтеза сукцината, особенно глутаматдегидрогеназную реакцию, а глутаминовая кислота их усиливает. Образование янтарной кислоты из Δ -КГЛ и при восстановлении ЦУК в обоих случаях сопровождается синтезом АТФ. Стимуляция этих реакций глутаминовой кислотой вносит весомый вклад в энергетический обмен организма в условиях гипоксии, поскольку реализация их происходит без потребления кислорода.

Наряду со стимуляцией сукцинатдегидрогеназного комплекса, глутаминовая кислота в условиях острой и хронической гипоксии повышает также активность НАД-зависимых дегидрогеназ.

В литературе широко распространено мнение о том, что между СДГ и НАД-зависимыми дегидрогеназами существует конкуренция за систему дыхательных ферментов и что одновременное увеличение активности этих двух групп ферментов происходить не может (B.Chance, G.Hollunger, 1960, 1961, 1961a; J.B.Chappel, 1961; H.A.Krebs и соавт., 1961; М.Н.Кондрашова, 1968, 1970, 1971). Казалось бы, что полученные нами результаты о стимулирующем влиянии глутамата на СДГ и НАД-связанные дегидрогеназы несовместимы с указанными взглядами. Мы полагаем, что в условиях гипоксии глутамат способен активировать обе ферментные системы. Дело в том, что глутаминовая кислота ускоряет ряд реакций, которые требуют восстановленных эквивалентов. К таким реакциям относятся восстановительный синтез сукцината из ПУК и восстановительное аминирование α -КГЛ в глутамат. В условиях гипоксии восстановительное аминирование под действием глутамата может усиливаться, поскольку при введении его в организм увеличивается концентрация

α -КГЛ в тканях и активируется ГДГ. Способствуют этой реакции повышенные концентрации восстановленных пиридиннуклеотидов и ашмиака при гипоксии (E.A.Jones, H.Gutfreund, 1962).

Главные пути обмена глутаминовой кислоты сопряжены с синтезом сукцината. В свою очередь, янтарная кислота может вызывать такие конформационные изменения в молекулах ферментов цикла Кребса, которые сопровождаются стимуляцией окисления НАД-зависимых субстратов в митохондриях (М.Г.Крицман и соавт., 1968).

Значительная часть восстановленных эквивалентов может отблекаться в реакциях глиоконеогенеза. Как показано рядом авторов

(I.C.Petersen и соавт., 1955; D.Adamo , D.E.Haft, 1965; R.Marcus , G.Reven , 1967; A.Szigeti , 1969), при введении в организм глутаминовой кислоты наблюдается гипергликемия, которая, по мнению указанных авторов, возникает в результате стимуляции этой аминокислотой глюконеогенеза. Возможность стимуляции синтеза глюкозы и гликогена при гипоксии под влиянием глутамата показана Ю.М.Гефтер и соавторами (1961) и М.А.Добринской (1962).

Таким образом, глутаминовая кислота, стимулируя реакции, потребляющие восстановленные пиридиннуклеотиды, освобождает их окисленные формы и способствует повышению активности НАД-зависимых дегидрогеназ. Помимо этого, в литературе имеются указания на то, что в прочносопряженных митохондриях сукцинатдегидрогеназа не является лимитирующим фактором окислительных процессов (А.Д.Виноградов, 1967). Нашими исследованиями показано, что глутаминовая кислота в условиях острой и хронической гипоксии стимулирует фосфорилирующее окисление, благотворно влияя на энергетический обмен в митохондриях. Улучшение энергетического обмена в свою очередь способствует сохранению эндогенных пиридиннуклеотидов, препятствует выходу НАД-зависимых ферментов (O.S.Estrada и соавт., 1970), что является одним из факторов увеличения активности НАД-зависимых дегидрогеназ в условиях гипоксии и при введении в организм глутамата.

В опытах с острой кислородной недостаточностью глутамат оказывает противогипоксическое действие, активируя НАД-зависимые дегидрогеназы. Если учесть, что снижение активности НАД-зависимых дегидрогеназ в митохондриях является результатом повреждающего действия острой гипоксии на их структуру и функции, то

устранение указанных сдвигов глутаматом является полезным для организма. У адаптированных к гипоксии животных происходит не только восстановление активности НАД-зависимых дегидрогеназ, но и их активация. Глутамат при этом усиливает компенсаторные механизмы организма, повышая активность этих ферментов.

Как уже отмечалось, пребывание животных в условиях острой и хронической гипоксии сопровождается разобщением дыхания с фосфорилированием, о чем свидетельствуют опыты по определению тканевого дыхания и активности ДНФ-активируемой АТФ-азы. Указанное, наряду с ингибированием окислительных процессов, является основным биохимическим механизмом, влекущим за собой энергетический дефицит в тканях.

Введенный в организм глутамат снимает ингибирующее влияние острой гипоксии на активность ДНФ-активируемой АТФ-азы в митохондриях печени, сердца и почек. Об активации глутаматом фосфорилирующего окисления в митохондриях печени при острой гипоксии свидетельствует усиление скорости дыхания в третьем метаболическом состоянии и скорости фосфорилирования АДФ в АТФ (табл. 7, 60-минутная гипоксия; табл. 18-20, рис. 22). Подобный эффект глутаминовая кислота оказывает и у адаптированных к гипоксии животных (табл. 28, рис. 38-43).

Стимуляция глутаминовой кислотой активности ДНФ-зависимой АТФ-азы при острой и хронической гипоксии указывает на то, что под действием этой аминокислоты активируется фосфорилирующее окисление, что способствует нормализации нарушенного энергетического обмена в тканях при недостатке кислорода в организме.

В процессе адаптации к гипоксии доля фосфорилирующего дыхания возрастает по сравнению с острой гипоксией. Глутамат и в этом

случае усиливает компенсаторные механизмы, стимулируя фосфорилирующий путь окисления.

Подобное действие оказывает глутаминовая кислота на фоне кобальтовой гистотоксической гипоксии (табл. 30, 31). Длительное введение кобальта (10 дней в дозе 0,3 мг на 100 г веса) вызывает разобщение дыхания с фосфорилированием в митохондриях печени. При окислении сукцината увеличивается скорость дыхания без акцептора фосфата и в четвертом метаболическом состоянии, снижаются коэффициент АДФ:О и скорость фосфорилирования. Подобные изменения, но менее выраженные определяются и при использовании глутамата в качестве субстрата дыхания.

Определение активности ферментов в митохондриях печени при введении в организм кобальта показало угнетение активности цитохромоксидазы и глутаматдегидрогеназы, однако активность НАДН-дегидрогеназного комплекса увеличивается. Стимуляция кобальтом дегидрогеназы восстановленного НАД обусловлена, вероятно, тем, что этот элемент стимулирует гемопоэз, и поэтому часть восстановленных эквивалентов расходуется на интенсивные синтетические процессы в кроветворных органах и, в частности, в печени (А.П.Ястребов, 1965).

Сравнительный анализ результатов, полученных при действии длительного введения кобальта и хронической гипоксии, выявляет много общего в действии этих факторов на функциональное состояние митохондрий. В обоих случаях происходит разобщение дыхания с фосфорилированием и угнетение активности цитохромоксидазы в митохондриях печени.

При одновременном введении кобальта и глутамата изменения в функциональном состоянии митохондрий имеют противоположный

характер. Глутаминовая кислота, как и при гипоксии, устраняет разобщающее действие кобальта и снимает его ингибирующее влияние на активность цитохромоксидазы. Снижается скорость дыхания без АДФ и в четвертом метаболическом состоянии, увеличивается дыхательный контроль по Ларди и Чансу. В результате указанных перестроек в метаболизме, вызванных глутаматом, увеличивается скорость синтеза АТФ при окислении сукцината на 31% и глутамата — на 23%. Заслуживают внимания изменения в активности ферментов, вызванные глутаматом при совместном введении его с кобальтом. Как и при гипоксии, глутамат стимулирует активность СДГ и МДГ, то есть ферменты, которые участвуют в окислении и синтезе янтарной кислоты. Стимуляция окисления и синтеза сукцината играет большую роль не только в энергетическом обмене, но и в обеспечении пластических функций, поскольку янтарная кислота используется на синтез гема.

В системе приспособительных механизмов организма к гипоксии важным звеном является борьба организма за максимальное использование кислорода при низком его парциальном давлении (З.И. Барбазова, 1960, 1966; Е.Ф. Котовский, Л.Л. Лившич, 1971; В.А. Березовский, 1972, 1972а). В этом плане из ферментов тканевого дыхания большое значение имеет активность цитохромоксидазы, которая непосредственно реагирует с кислородом. Стимуляция активности цитохромоксидазы под влиянием глутамата является одним из звеньев в сложной цепи биохимических процессов, через которые глутамат оказывает адаптогенное к гипоксии действие.

Следующим звеном, участвующим в снабжении тканей организма кислородом, является кровь. Крови придается большое значение в адаптации организма к низкому парциальному давлению кислорода

(М.И.Гуревич и соавт., 1966; Н.В.Лауер, А.З.Колчинская, 1966; M.V.Strumza, 1968; З.М.Барбашова и соавт., 1971; В.П.Дударев, 1971; Н.Н.Сиротинин, 1971). Гипоксическая стимуляция эритропоэза, увеличение количества эритроцитов, гемоглобина и изменение его свойств — важные физиологические приспособительные механизмы к кислородному голоданию.

Интересным и несколько неожиданным оказалось влияние глутаминовой кислоты на эритропоэз в условиях хронической гипоксии и длительного введения кобальта в организм. Гипоксия и кобальт являются мощными стимуляторами эритропоэза. Трудно было ожидать, чтобы на таком фоне глутаминовая кислота могла оказывать стимулирующее влияние на гемопоэз. Однако длительное введение в организм глутамата (10-14 дней) еще больше усиливает регенераторную способность кроветворных органов, активированную гипоксией и кобальтом.

Стимулирующее влияние глутамата на эритропоэз пока трудно полностью объяснить. По-видимому, его действие имеет тесную связь с участием в энергетическом обмене, а также в метаболизме янтарной кислоты, которая используется для синтеза гема. Вопрос о влиянии глутамата на эритропоэз требует специальных биохимических исследований. Однако полученные нами результаты позволяют рекомендовать глутаминовую кислоту как средство, стимулирующее эритропоэз, и применять ее в клинической практике при заболеваниях, где необходимо стимулировать регенерацию красной крови.

В регуляции обмена веществ и в формировании ответной реакции организма на экстремальные воздействия принимают непосредственное участие гормоны надпочечников (Г.Селье, 1960; Л.Я.Борисова, Л.И.Симановский, 1971; Э.Хейтман, 1972).

В условиях гипоксии гормоны надпочечников участвуют во всех звеньях адаптационных механизмов. Они влияют на биосинтез хромо-

протеидов и на регуляцию транспортной системы кислорода (З.И. Барбашова, 1966, 1966а), на насыщение гемоглобина крови кислородом (Э.А.Аджикулов, А.А.Айдаралиев, 1972; Е.А.Маркарова, Л.П. Огий, 1972; М.Е.Райскина, В.П.Мельниченко, 1972) и на обменные процессы в тканях (В.Н.Скулачев, 1969; В.Ф.Рудиченко, 1972).

Работами Н.А.Удинцева (1964, 1965, 1968, 1969) показано стимулирующее влияние глутаминовой кислоты на стероидогенез. Нашими исследованиями установлено, что глутамат неодинаково влияет на тканевое дыхание у интактных и адреналэктомированных животных (Н.А.Глов, 1966, 1966а). Указанные работы позволяют предположить возможность опосредованного влияния глутамата через гормоны надпочечников на окислительные процессы в организме. Подтверждением высказанного предположения могут быть опыты, которыми показано, что гипергликемический эффект глутамата обусловлен его стимулирующим влиянием на функцию надпочечников (D. Adamo, D. Haft, 1965; R. Marcus, G. Reven, 1967; A. Szigeti, 1969).

До настоящего времени нет четкого представления о влиянии гормонов на аэробные окислительные процессы (О.И.Елифанова, 1965). Анализ данных литературы показывает, что действие кортизона и адреналина на тканевый обмен зависит от условий проведения опытов и от дозы вводимого препарата. Большие дозы глюкокортикоидов ингибируют окисление восстановленного НАД (R. Lowy и соавт., 1957; C. H. Gallagher, 1960; К.И.Шаньгина, 1963; А.Н.Панов, А.Фонио, 1966; М.И.Смирнов и соавт., 1966; А.Н.Панов, 1968), активность сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы (Ю.А.Тойшу, 1968). Дозы кортикостероидов, близкие к физиологическим, стимулируют окислительные процессы в организме (В.В.Васильева и соавт., 1965; F. Rosen и соавт., 1963; Nishikawara, I. C. Bricker,

1966; И.Н. Кендыш, 1969; Л.И. Поликарпова, 1969; Г.С. Якобсон, А.В. Панов, 1971). В опытах на адреналэктомизированных животных нами было показано стимулирующее влияние адреналина и кортизона на тканевое дыхание в митохондриях печени в условиях гипоксии (Н.А. Глотов, 1966а, 1966б, 1967).

Учитывая данные литературы и результаты наших опытов, можно сделать заключение о том, что один из механизмов, через которые глутаминовая кислота оказывает влияние на энергетический обмен в организме, связан с ее способностью повышать функциональное состояние надпочечников.

Проведение данных исследований стало возможным благодаря внедрению в биохимическую практику быстрорегистрирующих полярографического и спектрофотометрического методов изучения функционального состояния митохондрий, позволяющих исследовать препарат в условиях, близких к физиологическим (М.Н. Кондрашова, 1964; М. Диксон, Э. Уэбб, 1966).

В своих опытах мы использовали указанные методы, имея в виду, что с их помощью можно получить более точные представления о тех сдвигах в биоэнергетике организма, которые вызваны недостатком кислорода в организме.

Количественное определение кислот цикла Кребса производилось ферментными методами, которые обладают высокой специфичностью и точностью (Э. Реккер, 1961).

Автором предложен модифицированный метод определения янтарной кислоты, который значительно проще в исполнении и позволяет проводить анализы на широко распространенных приборах — спектрофотометрах СФ-4, СФ-4а и спектроколориметрах.

Материалы, представленные в данной работе, содержат инфор-

мацию о влиянии острой и хронической гипоксии на важнейшие биохимические процессы митохондрий, которые являются основными поставщиками энергии в организме. Исследования активности большой группы митохондриальных ферментов и тканевого дыхания в них в комплексе с количественным определением таких метаболитов цикла Кребса, как пировиноградная, янтарная, α -кетоглутаровая и пировиноградная кислоты, позволили выявить многие стороны взаимоотношений, которые существуют между отдельными группами ферментов, а также проследить динамику взаимосвязей между сдвигами в активности ферментов и концентрацией метаболитов цикла Кребса. Все это позволило глубже понять изменения в биоэнергетике, которые являются следствием дефицита кислорода в организме.

В работе представлены новые данные о значении глутаминовой кислоты в адаптации энергетического аппарата митохондрий к низкому парциальному давлению кислорода в тканях организма. Глутамат натрия в условиях острой гипоксии оказывает прогипоксическое действие на сукцинатдегидрогеназную активность и прогипоксическое — на НАД-зависимые дегидрогеназы, цитохромоксидазу и ДНФ-зависимую АТФ-азу и стимулирует фосфорилирующее дыхание в митохондриях. Это соединение активно вмешивается в обменные процессы митохондрий, изменяя концентрацию ряда важнейших метаболитов цикла Кребса, участвующих в регуляции функционального состояния этих гранул. В условиях хронической гипоксии глутамат действует прогипоксически на весь комплекс изучаемых ферментов и стимулирует эритропоэз.

Указанные изменения в функции митохондрий под влиянием глутамата способствуют улучшению аэробных окислительных процессов и энергетического обмена в тканях при недостатке кислорода в организме.

Мы полагаем, что приведенные в данной работе результаты имеют определенный теоретический и практический интерес для биологов и специалистов по клинической, космической, авиационной и спортивной медицине.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что митохондрии разных органов неодинаково реагируют на недостаток кислорода в организме: пребывание животных в течение одного часа на "высоте" 8000 м сопровождается повышением активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и угнетением активности глутаматдегидрогеназы (ГДГ), малатдегидрогеназы (МДГ), НАДН:цитохром С-оксидоредуктазы и цитохром С-оксидазы в митохондриях печени; в митохондриях сердечной мышцы стимулируется активность МДГ и имеется тенденция к увеличению активности СДГ; активность ГДГ, НАДН:цитохром С-оксидоредуктазы и цитохром С-оксидазы не изменяется; в митохондриях почек угнетается активность ГДГ и МДГ и не изменяется активность цитохром С-оксидазы, СДГ и НАДН:цитохром С-оксидоредуктазы; снижается активность Mg^{2+} и ДНФ-зависимых АТФ-аз и стимулируется глутамат:щавелевоуксусная-аминотрансфераза в митохондриях печени, сердца и почек.

2. Полярнографическое определение дыхания в митохондриях печени животных, перенесших острую гипоксию, показало увеличение скорости дыхания в отсутствии АДФ и после полного фосфорилирования АДФ в АТФ с использованием в качестве субстрата дыхания янтарной кислоты. Указанные изменения в характере дыхания и активности АТФ-аз свидетельствуют о разобщении окисления с фосфорилированием в митохондриях.

3. Острый дефицит кислорода в организме приводит к повышению концентрации пировиноградной (ПВК) и L-кетоглутаровой (КГЛ) кислоты в крови, печени и почках, янтарной кислоты — в печени и почках, щавелевоуксусной кислоты (ЩУК) — в крови и снижение содержания ПВК и ЩУК в миокарде.

4. Можно полагать, что в основе обнаруженных изменений лежит низкоэнергетический сдвиг в метаболическом состоянии митохондрий, возникший в результате гипоксического ингибирования дыхания и разобщения окислительного фосфорилирования. Сопоставление показателей активности ферментов с изменением содержания указанных кислот в печени, миокарде и почках при острой гипоксии дает все основания предполагать, что гипоксическая перестройка обменных процессов в митохондриях указанных органов заключается в стимуляции окисления и синтеза сукцината, что указывает на возможность переключения окислительных процессов на преимущественное окисление янтарной кислоты.

5. Введение глутамата натрия в дозе 1 мг на 1 г веса перед созданием у крыс острой гипоксии повышает активность СДГ, глутамат:щавелевоуксусной-аминотрансферазы, восстанавливает или стимулирует ингибированную недостатком кислорода активность ГДГ, МДГ, НАДН:цитохром С-оксидоредуктазы и цитохром С-оксидазы в митохондриях печени, сердца и почек. Под влиянием глутамата нормализуется активность Mg^{2+} и ДНФ-стимулируемых АТФ-аз в митохондриях печени, сердца и почек, снижается скорость дыхания без АДФ ($V_{\text{до}}$) и после полного фосфорилирования АДФ в АТФ, а также увеличивается скорость фосфорилирования АДФ в АТФ в митохондриях печени, что свидетельствует о снятии последствий острой гипоксии и об улучшении энергетического обмена в тканях организма.

6. При острой гипоксии глутамат натрия повышает концентрацию α -кетоглутаровой кислоты в крови, миокарде и печени, пировиноградной кислоты - в крови, сукцината - в печени, ШУК - в почках.

ПЕРИОДЫ - 10 - 15 мин.

7. Можно полагать, что при остром кислородном голодании введение в организм глутамата вызывает такие изменения в метаболизме,

которые сопровождаются усилением реакций окисления и синтеза янтарной кислоты, активацией фосфорилирующего дыхания, уменьшением низкоэнергетического сдвига в митохондриях. Все это способствует нормализации энергетического обмена в организме.

8. В период адаптации к гипоксии (ежедневное пребывание животных в барокамере на "высоте" 6000 м по 6 часов в день в течение двух недель) происходит восстановление, а в ряде случаев увеличение активности НАД-зависимых дегидрогеназ в митохондриях печени и почек и стимуляция сукцинат-дегидрогеназной активности в митохондриях печени и сердца.

9. У адаптированных к гипоксии крыс активность ДНФ-активируемой АТФ-азы выше, чем у животных с острой гипоксией, и в ряде случаев достигает уровня контрольных животных; в митохондриях печени нормализуется скорость дыхания без АДФ ($V_{4до}$) и после полного фосфорилирования добавленного АДФ в АТФ (V_4), стимулируется скорость дыхания в третьем метаболическом состоянии и повышается скорость фосфорилирования АДФ в АТФ с использованием в качестве субстратов дыхания янтарной и глутаминовой кислот. Изменения активности ферментов у адаптированных к гипоксии животных сопровождаются снижением концентрации ПВК в печени и миокарде, γ -КТГ — в почках, янтарной кислоты — в печени и сердечной мышце, увеличением количества ПУК и сукцината в почках и γ -КТГ — в печени.

10. Ежедневные введения глутамата натрия через зонд в желудок в период адаптации крыс к гипоксии способствуют усилению компенсаторных механизмов: значительно повышается активность СДГ, НАД-зависимых дегидрогеназ, цитохром С-оксидазы и ДНФ-активируемой АТФ-азы.

11. Кобальт, вводимый в дозе 0,5 мг на 100 г веса в течение 10 дней, угнетает активность цитохром С-оксидазы и разобщает дыхание с фосфорилированием в митохондриях печени. Одновременное с кобаль-

том введение глутамата уменьшает разобщающее действие кобальта и стимулирует активность цитохром С-оксидазы в митохондриях этого органа.

12. В крови адаптированных к гипоксии животных, а также после длительного введения кобальта определяется повышенное количество ретикулоцитов, гемоглобина и эритроцитов. Глутаминовая кислота в указанных условиях стимулирует эритропоэз.

13. Характер сдвигов в активности ферментов и в концентрации кислот цикла Кребса показывает, что у адаптированных к гипоксии животных восстанавливается окисление НАД-зависимых дегидрогеназ, возрастает доля фосфорилирующего окисления, больше синтезируется АТФ в единицу времени; глутаминовая кислота, усиливая указанные изменения, способствует адаптации животных к кислородной недостаточности.

14. Полученные результаты позволяют рекомендовать шире применять глутаминовую кислоту при патологических и физиологических состояниях, сопровождающихся явлениями гипоксии, как препарат, способствующий адаптации организма к низкому парциальному давлению кислорода в тканях организма.

Выражаю искреннюю признательность и глубокую благодарность моему учителю — доктору биологических наук, профессору Арону Моисеевичу ГЕНКИНУ за постоянную помощь в выполнении настоящей работы.

Сердечно благодарю коллектив кафедры биологической химии за товарищескую поддержку и участие в проведении исследований.

1. АБРАРОВ А.А. Влияние рационов с различным содержанием кобальта и меди на кроветворение, а также на количественное соотношение глобина и гематина в крови у белых крыс. Канд. дисс., М., 1962
2. АГАНЕСЯН А.С., ГРИГОРЯН Д.З. К вопросу обмена L-аминокислот в мозговом слое почек белых крыс. Биол. ж. Армении, АН Арм.ССР, Ереван, 1970
3. АДЖИКУЛОВ Э.А., АЙДАРАЛИЕВ А.А. Влияние катехоламинов на напряжение кислорода и кровоток икроножной мышцы кроликов в условиях высокогорья. Сб. Полярнографическое определение кислорода в биологических объектах, Киев, 10, 1972
4. АДИНЦОВА С.А. О профилактике мертворождаемости глутаминовой кислотой. Сб.: Труды Андижанского мединститута, Ташкент, 3, 491, 1962
5. АКСЕНОВА Л.П. Содержание липидов в сердечной мышце, крови и других тканях животных при экспериментальной острой ишемии миокарда. Автореф. канд. дисс., Воронеж, 1967
6. АЛЛОВ И.А. Очерки физиологии митотического деления клетки. М., 1964
7. АЛЛОВ И.А., БРАУДЕ А.И., АСНИЗ М.Е. Основы функциональной морфологии клетки. "Медицина", М., 1966
8. АНДРЕЕВ А.Л., ХОЛИЗЕВА Е.К. О лечении эпилепсии глутаминовой кислотой. Журн. Невропатологии и психотерапии им. С.С. Карсакова, 55, 5, 359, 1955
9. АРЕТИНСКИЙ Б.В. Влияние гипероксии на регенерацию крови при экспериментальных анемиях. Патологическая, функциональная и экспериментальная терапия № 6, 38, 1958
10. АРЕТИНСКИЙ Б.В. Влияние гипероксии на регенерацию крови при экспериментальных анемиях. Канд. дисс., Свердловск, 1961
11. АРЕТИНСКИЙ Б.В. О применении кислородной терапии при анемических состояниях. Сб.: Вопросы патологии крови, Свердловск, 31, 1962
12. АЧ Г., БЕЛАНЖ Ф., ШТРАУБ Ф. Изменение обмена веществ в срезах коры мозга. Уровень АТФ и его изменения под влиянием глутаминовой кислоты. Укр. биох. журн., 25, 17, 1953
13. БАГАРИН П.М., ЧИБИЧЬЯН Д.А. Некоторые биохимические показатели адаптации спортсменов к условиям гипоксии в зависимости от характера тренировки. Матер. к итогам Научной сессии ин-та за 1964 г. М., 268, 1965
14. БАРБАШОВА З.И. Акклиматизация к гипоксии и её физиологические механизмы. М.-Л. 1960

15. БАРЕБАНОВА З.И. Современные представления о перестройках клеточного химизма в процессе акклиматизации и гипоксии. В сб. Кислородная недостаточность, АН УССР, Киев, 370, 1963
16. БАРЕБАНОВА З.И., ГРИГОРЬЕВА Г.И., ВАСИЛЬЕВА В.В. О тканевом факторе адаптации к гипоксии. X съезд Всесоюз. физиол. общества, Ереван, 156, 1964
17. БАРЕБАНОВА З.И. Приспособительные изменения транспорта кислорода в клеточной цитоплазме и митохондриях. Кислородный режим в организме и его регуляция, Киев, 156, 1966, А
18. БАРЕБАНОВА З.И. Изменение газообмена как следствие приспособительных сдвигов клеточного дыхания. Сб.: Симпозиум. Газообмен в условиях высокогорья. Фрунзе, 42, 1967
19. БАРЕБАНОВА З.И., ГРИГОРЬЕВА Г.И., СИМАНОВСКИЙ Л.Н., ТАРАКАНОВА О. ПЕРСИАНОВА В.Р. Клеточный уровень адаптации к гипоксии в системе красной крови. Сборник научных трудов: Горы и система крови, Фрунзе, 5, 1971
20. БЕЙЛИ Дж. Методы химии белков. Мир, М., 265, 1965
21. БЕЛАЯ Н.К. Опыт лечения параличей при дифтерии глутаминовой кислотой. Педиатрия, 6, 68, 1961
22. БЕЛИЦЕР В.А., ЦИБАКОВА Е.Т. О механизме фосфорилирования, сопряженного с дыханием. Биохимия, 4, 516, 1939
23. БЕЛОГОРСКИЙ М.А. Азотистый обмен при пониженном барометрическом давлении. Автореферат докторской дисс., Махачкала, 1949
24. БЕНЕДИКТ А.А., ДАШКОВСКАЯ В.С. Применение глутаминовой кислоты при внутричерепной травме. Педиатрия, 2, 50, 1955
25. БЕРЕЗОВСКИЙ В.А. Содержание кислорода в крови и тканях при гипоксии. Сб.: Полярнографическое определение кислорода в биологических объектах, Киев, 18, 1972
26. БЕРЕЗОВСКИЙ В.А. Каскады напряжения кислорода в свете данных окситензометрии. В сб. Полярнографическое определение кислорода в биологических объектах, Киев, 17, 1972, а
27. БЕРНШТЕЙН Ф.Я., КИЧИНА М.М. Влияние некоторых микроэлементов на остаточную окисляемость крови и окисляемость промежуточных продуктов обмена. Докл. АН БССР, 4, 2, 82, 1960
28. БЕСПАЛОВ И.Т., РУССКИХ В.В. Перспективы применения оптически действенной глутаминовой кислоты в неврологической практике. В кн. Труды конф. по произв. и использованию аминокислот в медицине, М., 145, 1956

29. БЕСПАЛОВ И.Т., ГУРОВИЧ Д.С., МАРИН А.И. К вопросу лечебного использования соединений аминокислот и микроэлементов. Кобальтовая соль глутаминовой кислоты. Вопросы психотерапии, 2, 171, 1957
30. БЕССОНОВА М.И., МОИСЕЕВА Л.П. Опыт лечения неврозов препаратом "лейцин" и магниево-кальциевой солью глутаминовой кислоты. Тр. конференции по использованию аминокислот в медицине, М., МГУ, 101, 1956
31. БИНГ Р.Д. Нарушение обмена веществ миокарда. Сб.: Достижения кардиологии, М., 54, 1959
32. БОЙЕР П.Д. Новые гипотезы о механизмах фосфорилирования и передачи энергии в мышцах и митохондриях. В сб.: Молекулярная биология (Проблемы и перспективы), "Наука", М., 224, 1964
33. БОРИСОВА Л.Я., СИМАНОВСКИЙ Л.Н. Содержание кортикостерона в различных тканях в процессе адаптации к гипоксии. Физиол. журн. СССР I- VII, 12, 1817, 1971
34. БРАУНШТЕЙН А.Е., КРИЦМАН М.Г. Образование аминокислот путем интермолекулярного переноса аминокислот. Сообщ. I. Превращение (+) глутаминовой кислоты в мышечной ткани. Булл. exper. биол. и мед., 3, 3, 246, 1937
35. БРАУНШТЕЙН А.Е., КРИЦМАН М.Г. Образование аминокислот путем интермолекулярного переноса аминокислот. Биохимия, 2, 3, 242, 1937
36. БРАУНШТЕЙН А.Е. Ферментная система переаминирования, её биологическое значение и механизм действия. Биохимия, Т-4, в.6, 667, 1939
37. БРАУНШТЕЙН А.Е., АЗАРХ Р.М. О механизме дезаминирования α -аминокислот в тканях почек и печени. Биохимия, 9, в-6, 336, 1944
38. БРАУНШТЕЙН А.Е. Переаминирование и химическая интеграция азотистого обмена. В кн.: 7 Всесоюзный съезд физиологов, биохимиков и фармакологов, М., 707, 1949
39. БРАУНШТЕЙН А.Е. В кн.: Биохимия аминокислотного обмена. М., 1949, в г.к.
40. БРАУНШТЕЙН А.Е. Некоторые итоги изучения процессов обмена аминокислот, их механизма и взаимосвязей. Укр. биохим. журн. 22, 3, 273, 1950
41. БРАУНШТЕЙН А.Е. Некоторые черты интеграции процессов азотистого обмена. Вестник АМН СССР, № 5, 45, 1959
42. БРАУНШТЕЙН А.Е. О специфически динамическом действии белков и аминокислот. Фосф. и функц. ЦЭМ, стр. 126, 1960
43. БРАУНШТЕЙН А.Е. Реакции переноса азотосодержащих групп в процессах биосинтеза и метаболизма аминокислот. В кн.: Обмен аминокислот, Тбилиси, II, 1967

44. БРАШЕ Л. Биохимическая цитология. И.П.Л.М. 1960
45. БРЕССЛЕР В.М. Энергетика клеток в процессе регенерации, ее значение в биосинтезе ДНК и выполнение специфических функций. Материалы четвертой конференции по вопросам регенерации и клеточного размножения. М., 21, 1964
46. БУНЯТЯН Г.Х. О роли гамма-аминомасляной кислоты в проницаемости клеточных мембран. Вопросы биохимии, Ереван, И.АН Арм.ССР 197, 1960
47. БУНЯТЯН Г.Х. Новые данные о роли гамма-аминомасляной кислоты в мозговой ткани. Третья Всесоюзная конференция по биохимии нервной системы. И. АН Арм. ССР, 133, 1963
48. БУНЯТЯН Г.Х. Некоторые обменные процессы, связанные с гамма-аминомасляной кислотой. В кн.: Обмен аминокислот, Тбилиси, 85, 1967
49. ВАЛОВ А.П. Влияние глутаминовой кислоты на напряжение кислорода в скелетных мышцах животных в норме и при гипоксии. Сб. Материалы XXX годичной научной сессии Свердловского медицинского института, Свердловск, 325, 1968
50. ВАЛОВ А.П. Влияние глутаминовой кислоты на напряжение кислорода и окислительно-восстановительный потенциал в ткани печени в условиях гипоксии. Сб.: Материалы УІ Уральской конференции физиологов, фармакологов и биохимиков в г.Тюмени, Свердловск, 213, 1969
51. ВАЛОВ А.П. О длительности влияния глутаминовой кислоты на напряжение кислорода и окислительно-восстановительный потенциал в некоторых органах белых крыс в условиях гипоксии. Сб.: Материалы 32-й и 33-й годичных научных сессий, г.Свердловск, 1970
52. Э.Ван ЛИР, СТИКНЕЙ К. Гипоксия. М., Медицина, 1967
53. ВАНІВНТЕЙМ К.А., ДВАЛИДЗЕ Ю.Ф., ПИМИКОВА Г.А., УДИНЦЕВ Н.А. О влиянии глутаминовой кислоты на судороги, осложняющие инсулиновую гипогликемию. Сов. мед., II, 89, 1962
54. ВАСИЛЬЕВА В.В., СЕЙФУЛЛА Х.И., ХОВАНСКАЯ М.Г. Окислительное фосфорилирование в печени белых крыс под влиянием длительных воздействий АКГТ, кортизона и гидрокортизона. В кн.: Фармакология и химия, М., стр. 55, 1965
55. ВЕРБОЛОВИЧ П.А., ВЕРБОЛОВИЧ В.П. Миоглобин и исследование кислорода в животном организме. Сб.: Полярнографическое определение кислорода в биологических объектах, Киев, 24, 1972
56. ВЕРЕЩАГИН С.М., СЫТИНСКИЙ И.А. Фармакологические эффекты γ -аминомасляной кислоты. Физиол. журн., 10, 1287, 1960

57. ВЕРЕШАГИН С.М., СИТИНСКИЙ И.А., ТИЩЕНКО В.П. Влияние γ -амино-масляной кислоты и В-аланина на двигательные эффекты и биохимическую активность анионид и членистоногих. Ж. общ.биол., 22, № 6, 467, 1961
58. ВЕРШИНСКАЯ И.А. Транзиторный механизм адаптации животных к пониженному содержанию кислорода во внешней среде. Изв. АН СССР, сер.биол. 3, 430, 1962
59. ВЕСЕЛКИН И.В., ГОРДОН Б.Г. Нарушение азотистого обмена и кислотнощелочных отношений у собак с ЭКК-Павловским свищем. Бюлл. exper. биол. и мед. 35, 4, 53, 1953
60. ВЕСЕЛКИН В.Н., ГОРДОН Б.Г. Аммиачная интоксикация центральной нервной системы при нарушении деятельности печени и пути её устранения. Вопр. мед. химии, 1, 6, 437, 1955, а
61. ВЕСЕЛКИН И.И. Об изменениях энергетического обмена при лихорадочных состояниях. Сб.: Фосфорилирование и функция. И.Э.М., 327, 1960.
62. ВИНОГРАДОВ А.Д. Ингибирование окисления янтарной кислоты оксалоацетатом. Биохимия, 32, 2, 1271, 1967
63. ВИНОГРАДОВ А.Д. Окисление сукцината и обратный транспорт электронов в дыхательной цепи. Канд. дисс., М., 1967
64. ВИНОГРАДОВ А.Д., КОНДРАШОВА И.И. Колебательный характер установления стационарной концентрации пиридиннуклеотидов в митохондриях при переходе от активного дыхания к состоянию покоя. В кн.: Колебательные процессы в биологических и химических системах. М., "Наука", 122, 1967
65. ВИНОГРАДОВ А.Д., ВЕТОДИНЕНКО Ю.В. Использование богатых энергией соединений в митохондриях. В кн.: Митохондрии, биохимия, функция и морфология. "Наука", 5, 1967
66. ВИНОГРАДОВ А.Д. Влияние α -Кетоглутарата и ионов аммония на окисление сукцината митохондриями печени. Биохимия, 33, 3, 553, 1968
67. ВИНОГРАДОВ А.Д., КОНДРАШОВ Г.И. Ингибирование сукцинатоксидазной системы митохондрий цитохромоксидазой. Митохондрии, ферментальные процессы и их регуляция. "Наука", М., 118, 1968
68. ВИНОГРАДОВ А.Д. Роль богатых энергией соединений в обмене веществ в митохондриях. В кн.: Митохондрии, структура и функции в норме и патологии. М., Наука, 40, 1971
69. ВИНОГРАДОВ А.Д., ЗИМАКОВА И.И., СОЛНЦЕВА Г.И. О механизме ингибирования сукцинатдегидрогеназы оксалоацетатом. В сб.: Митохондрии, молекулярные механизмы ферментативных реакций. Наука, М., 13, 1972

70. ВИНОГРАДОВА Е.Н., ГАЛЛАЙ З.А., ФИНОГЕНОВА З.М. Методы полярографического и амперометрического анализа. Изд. МГУ, М., 1963
71. ВЛАДИМИРОВ Г.Е. Функциональная биохимия мозга. И.АН СССР, 1954
72. ВЛАДИМИРОВ Г.Е., СЫТИНСКИЙ И.Л. Обмен γ -аминомасляной кислоты и её роль в функциональной деятельности нервной системы. Успехи совр. биол., 51, 1, 4, 1961
73. ВЛАДИМИРОВА Е.А. К вопросу об образовании аммиака в мозгу. О синтезе глутамина и биологической нейтритизации аммиака в головном мозгу. Биол. эксп. биол. и мед., XXX, II, 345, 1950
74. ВЛАДИМИРОВА Е.А. Аммиак головного мозга как специфический биохимический показатель функционального состояния центральной нервной системы. Сб.: Биохимия нервной системы, АН УССР, Киев, 47, 1954
75. ВЛАДИМИРОВА Е.А. Влияние условнорефлекторного возбуждения и торможения центральной нервной системы на содержание аммиака в больших полушариях головного мозга. Физиол. журн. СССР, 43, 2, 117, 1957
76. ВЛАДИМИРОВА Е.А. О некоторых особенностях ферментативного образования аммиака в ткани головного мозга и значение содержания его для выяснения механизмов нервной деятельности. Третья Всесоюз. конф. по биох. нервной системы. И. АН Арм. ССР, 207, 1963
77. ВОГУЛКИНА Т.Э., БУЙНЯКОВА Е.К. Некоторые биохимические сдвиги у детей, леченных глутаминовой кислотой. Вопросы гематологии и иммунологии., Свердловск, 287, 1965
78. ВОГУЛКИНА Т.Э. Использование глутаминовой кислоты в педиатрической практике. В сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты на организмы в эксперименте и клинике. Свердловск, 110, 1966
79. ВОГУЛКИНА Т.Э. Использование глутаминовой кислоты при гипоксических состояниях у детей. Педиатрия, 8, 71, 1968
80. ВОЙНАР А.О. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. М., 1960
81. ВОЙТКЕВИЧ В.И. Некоторые физиологические механизмы усиления гемопоэза при хронической гипоксии. Сборник научных трудов "Горы и система крови", Фрунзе, Т-68, 20, 1971
82. ВОЛКОВА Т.Н., РУССКИХ В.В. Применение глутаминовой кислоты и особенности выделения некоторых аминокислот у детей с болезнью Дауна. Журн. Невропат. и психотер. им. С.С. Карсакова, 56, 9, 750, 1956
83. ВОЛКОВ М.С. Влияние глутаминовой кислоты на дыхательную функцию крови при гемической гипоксии. Дисс. на соиск. ученой степени канд. мед. наук, Свердловск, 1963

84. ВОЛКОВ М.С. Влияние глутаминовой кислоты на поглощение радиоактивного иода щитовидной железой при различных формах гипоксии. В сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты на организм в эксперименте и клинике. Свердловск, 23, 1966
85. ВОЛКОВ М.С., ГЛОТОВ Н.А. Изменение интенсивности основного обмена и окислительного фосфорилирования в митохондриях печени под влиянием глутаминовой кислоты при гипоксии и тиреоидэктомии. Укр. биох. журн. 40, 5, 431, 1968
86. ВОЛКОВ М.С. Роль щитовидной железы в механизме действия глутаминовой кислоты на обмен веществ. Сб. Материалы VI Уральской конференции физиологов, биохимиков и фармакологов в г.Тюмени, Свердловск, 218, 1969
87. ВОЛЬФИНЗОН Я.Р. Приспособление организма к кислородной недостаточности, вызываемой ядами с различными механизмами гипоксического действия. Фармакология и токсикология, 24, 5, 610, 1961
88. ВРБА Р. К вопросу об участии белков нервной ткани головного мозга в процессах возбуждения и торможения. Успехи современ. биол., 3, 321, 1956
89. ГАЛЕЕВА Л.С., СОГРИНА К.А. Влияние глутаминовой кислоты на устойчивость плодов кроликов к внутриутробной кислородной недостаточности. Сб. тезисов и авторефератов III Уральской конф. физиологов, биохимиков, фармакологов, Ижевск, 125, 1960
90. ГАЛОЯН А.А. Некоторые проблемы биохимии гипоталамической регуляции. Ереван, 1965
91. ГЕВОРГЯН Ю.М. Влияние АКТГ на содержание гликогена в тканях крыс при острой гипоксии. Вopr. мед. химии, 12, 6, 603, 1966
92. ГЕЙРОВСКИЙ Я. Полярнографический метод, теория и практическое применение. Л., 1937
93. ГЕЙРОВСКИЙ Я. Техника полярнографического исследования. И.Л.М., 1951
94. ГЕЙРОВСКИЙ Я. Основы полярнографии. Наука, М., 1967
95. ГЕНКИН А.М., СМОЛИНА Т.Н., СОГРИНА К.А. Влияние глутаминовой кислоты на некоторые обменные процессы при нарушении мозгового кровообращения у новорожденных детей. Научная сессия Свердловского института ОММ., Свердловск, 9, 1957
96. ГЕНКИН А.М., УДИНЦЕВ Н.А. Влияние глутаминовой кислоты на потребление кислорода животными в условиях гипоксии. Бюлл. экспер. биол. и мед. 35, 5, 58, 1958
97. ГЕНКИН А.М., УДИНЦЕВ Н.А., ВОЛКОВ М.С., ГЛОТОВ Н.А., ЖДАХИНА К.С., НИКИФОРОВ А.П. О механизме влияния глутаминовой кислоты на обменные процессы в организме. Здравоохранение Казахстана, 2, (246), 43, 1966

98. ГЕНКИН А.М., ГЛОТОВ Н.А. Влияние глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях регенерирующей печени. Материалы конференции по физиологии, биохимии и фармакологии с участием практических врачей. Уфа, 275, 1966
99. ГЕНКИН А.М., УДИНЦЕВ Н.А., ВОЛКОВ М.С., ГЛОТОВ Н.А. Роль глутаминовой кислоты в механизме адаптации к некоторым стрессовым состояниям. Сб.: Биохимические, фармакологические и токсикологические аспекты исследования адаптации. Новосибирск, 137, 1967
100. ГЕНКИН А.М., ГЛОТОВ Н.А. Влияние глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени в норме и при гипоксии. Бюлл. эксп. биол. и мед., 63, 2, 50, 1967
101. ГЕНКИН А.М., НИКИФОРОВ А.П. Влияние введения глутаминовой кислоты на её содержание в тканях крыс в норме и при гипоксии. Укр. биох. журн., 39, 2, 204, 1967
102. ГЕРШЕНОВИЧ З.С., КРИЧЕВСКАЯ А.А. Аммиак в механизме нервной деятельности. Пятая биохимическая конференция Прибалтийских республик и Белоруссии. Тарту, 31, 1960
103. ГЕФТЕР Ю.М., ДОБРИНСКАЯ М.А., ЗАХАРОВА А.В., РОМАНЧУК Л.А., РУБИНА Х.М. Изменение обмена веществ в тканях при гипоксии и терапевтические воздействия. У Метод биох. контр., М., 2, 158, 1961
104. ГЕФТЕР Ю.М., ДОБРИНСКАЯ М.А., ЗАХАРОВА А.В., РОМАНЧУК Л.А., РУБИНА Х.М., ЧЕТВЕРИКОВА Е.К., ЩЕРБАК И.Г. Терапевтическое воздействие на измененные показатели обмена веществ в тканях белых крыс при гипоксии. В сб.: Влияние кислородной недостаточности на обмен веществ в тканях. Л., 2, 44, 1962
105. ГЕФТЕР Ю.М., ДОБРИНСКАЯ М.А., ЗАХАРОВА А.В., РОМАНЧУК Л.А., РУБИНА Х.М., ЧЕТВЕРИКОВА Е.К. Изменение показателей обмена веществ в тканях белых крыс при кислородной недостаточности. Тезисы докладов конференции по вопросам гипоксии и биохимии нервной и мышечной систем. Л., 9, 1962, а
106. ГЕФТЕР Ю.М., БОРИСОВ П.И., ДОБРИНСКАЯ М.А., ЗАХАРОВА А.В., КУЛИКОВА А.И., ПЕТУХОВ М.И., ПОМЫТКИН Н.П., ПОСТУПАЕВ П.П., РОМАНЧУК Л., РУБИНА Х.М., ТАРАНОВА Н.П., ЧЕТВЕРИКОВА Е.К., ЩЕРБАК И.Г. Влияние кислородной недостаточности на обмен веществ в мышцах. В сб.: Всесоюзная конференция по мышечной биохимии. Наука, Москва-Ленинград, 35, 1966
107. ГЛОТОВ Н.А. Влияние глутаминовой кислоты на окислительное фосфорилирование в митохондриях печени адреналэктомированных животных в условиях гипоксии. Материалы XXIX годичной научной сессии Свердловского медицинского института, Свердловск, 8, 1966

108. ГЛОТОВ Н.А. Влияние кортизона на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени адреналэктомированных животных в условиях гипоксии. В сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты на организм в эксперименте и клинике. Свердловск, 20, 1966, а
109. ГЛОТОВ Н.А. Изменение дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях печени у интактных и адреналэктомированных животных под влиянием глутаминовой кислоты и кортизона в норме и при гипоксии. Материалы IX Всесоюзной конференции по физиологическим основам повышения продуктивности сельскохозяйственных животных. Боровск, кн. I, 181, 1966, б
110. ГЛОТОВ Н.А. Влияние введения глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени при некоторых состояниях организма. Канд. дисс. Свердловск, 1967
111. ГОВОР Л.Л. Состояние активности альдолазы у больных острыми и хроническими пневмониями. Здравоохранение Белоруссии, 5, 32, 1966
112. ГОЛЬДШТЕЙН В.Д. Исследование активности ферментов сыворотки крови у больных туберкулезом легких. Сов. медицина, № 10, 107, 1969
113. ГОРБУНОВА З.В., ЯСАКОВА О.И., УДИНЦЕВ Н.А. Влияние глутаминовой кислоты на окислительные процессы при недостаточности кровообращения у больных с ревматическими пороками. Терапевтический архив, 32, 8, 50, 1960
114. ГОРЛОВА Н.Н. Применение глутаминовой кислоты при осложненных родах как метод профилактики мертворожденности. Сб.: Свердловский научно-исследовательский институт ОММ. Итоговая научная сессия. Свердловск, 1960
115. ГРИН Д. Цикл лимонной кислоты и циклофоразная система. В кн.: Дыхательные ферменты, И.ИЛ., М., 296, 1952
116. ГРИН Д.Е. Строение и функция митохондрий. В кн.: Структурные компоненты клетки. И.И.Л., М., 78, 1962
117. ГРИН Д.Е. О биологических мембранах. Молекулярная биология. Проблемы и перспективы. Наука, М., 260, 1964
120. ГРИН Д.Е., ФЛЕЙШЕР С. Молекулярная организация биологических преобразующих систем. Сб.: Горизонты биохимии, М., Мир, 293, 1964
121. ГРОЗДОВА М.Д. Особенности обмена веществ мышцы сердца. Вопр. мед. химии, XIII, 6, 563, 1967
122. ГРОМОВА К.Г. Содержание КоА в головном мозгу при его анемии и возбуждении. В сб.: Фосфорилирование и функция. ИЭМ., Л., 284, 1960
- 123.

123. ГУЛЫЙ М.Ф. Основные метаболические циклы. Киев, 1968
124. ГУРЕВИЧ Г.И. Гипоксия и её влияние на организмы человека. Военно-мед. журн., 5, 51, 1967
125. ГУРЕВИЧ М.И., БЕРШТЕЙН С.А., ПОВЖИТКОВ М.М. Гемодинамические сдвиги и регионарное кровообращение при изменениях кислородного режима организма. Кислородный режим организма и его регулирование. Киев, 118, 1966
126. ГУРЕВИЧ М.И., БЕРШТЕЙН О.А. О соотношениях изменений напряжения кислорода и регионарного кровотока в тканях при острой гипоксии. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 63, 3, 31, 1967
127. ДЕМЧЕНКО Н.П. Влияние солей глутаминовой кислоты и способов их введения на показатели окислительных процессов в крови при пневмонии у детей первого года жизни. В сб.: Материалы VI Уральской конференции физиологов, фармакологов и биохимиков в г.Тюмени, г.Свердловск, 233, 1969
128. ДЕМЧЕНКО Н.П. О длительности влияния глутаминовой кислоты на окислительные процессы в крови детей, больных пневмонией. Сб.: Материалы VI Уральской конференции физиологов, фармакологов и биохимиков в г. Тюмени, Свердловск, 235, 1969 а
129. ДЕМЧЕНКО Н.П. Влияние препаратов глутаминовой кислоты на некоторые показатели окислительных процессов при пневмонии у детей первого года жизни. Дисс. канд. Свердловск, 1970
130. ДИКСОН М., УЭББ Э. Ферменты. "Мир", М., 1966
131. ДОБРИНСКАЯ М.А. Влияние глутаминовой кислоты на показатели углеводного обмена тканей белых крыс в условиях гипоксии. В сб.: Влияние кислородной недостаточности на обмен веществ в тканях, Л., 2, 49, 1962
132. ДОМОНТОВИЧ Е.П. Некоторые физиологические механизмы приспособления организма к кислородной недостаточности. Сб.: Физиология и патология дыхания. Гипоксия и оксигенотерапия. Киев, 67, 1958
133. ДРАГУНОВА Н.С. Лечение детских центральных параличей глутаминовой кислотой. Педиатрия, 2, 59, 1955
134. ДУДАРЕВ В.П. Роль гемоглобина в адаптации к гипоксии и гипероксии. Сб.: Горы и система крови, Фрунзе, т-68, 36, 1971
135. ДЭВИС Б. Вступительное слово: телеономическое значение регуляторных механизмов биосинтеза. В сб.: Регуляторные механизмы клетки. "Мир", III, 9, 1964
136. ДЭВИС Д.Д., ДЛОВАНЕЛЛИ Д., РИС Т. Биохимия растений, "Мир", М., 1966
137. ЕВНИНА И.И. О состоянии процессов метаболизма и механизмов адаптации при некоторых пороках сердца. Докт. дисс., Ростов-на-Дону, 1968

138. ЕВТОДИЕНКО Ю.В., ШИПАКИН В.Н. Активация и ингибирование АТФ-азы митохондрий неорганическими катионами. В сб.: Митохондрии, М., Наука, 186, 1971
139. БИЯН В.Б. Влияние гамма-аминомасляной кислоты на поглощение глюкозы мозгом. Сб. Вопросы биохимии, И.АН Арм. ССР, Ереван, 35, 1961
140. ЕПИФАНОВА О.И. Гормоны и размножение клеток. Наука, М., 1965
141. БОИМОВА Л.К. О некоторых показателях белкового обмена при пневмонии у детей раннего возраста. Педиатрия, II, 52, 1969
142. ЕЩЕНКО Н.Д., ПУТИЛИНА Р.Е. Волияние адреналина и АКГГ на обмен глюкозы в головном мозгу. Нервная система, вып. 9, Л., 28, 1968
143. ЕЩЕНКО Н.Д., КРЕСТНИКОВА А.М., ПРОХОРОВА М.И., ПУТИЛИНА Ф.Е. Регуляция активности некоторых кетокислотных аминотрансфераз, дегидрогеназ цикла кребса и лактатдегидрогеназы. В сб.: Второй Всесоюзный биохимический съезд. Тезисы доклада, Ташкент, 99, 1968
144. ЖАЛЫБИНА Л.Т. Опыт лечения рахитической миопатии глутаминовой кислотой. Вопросы педиатрии. Тр. Воронежского медицинского инст 50, 2, 87, 1963
145. ЖОРДАНИЯ Ю.Д. К вопросу о применении глутаминовой кислоты при слабости родовой деятельности. Автореф. канд. мед. наук, Тбилиси, 1965
146. ЗАХАРОВА А.В. Влияние глутаминовой кислоты на содержание АТФ, минерального фосфата и креатинфосфата в тканях крыс в условиях гипоксии. В сб.: Влияние кислородной недостаточности на обмен веществ в тканях. Л., 2, 53, 1962
147. ЗАМОТАЕВ И.П., УДИНЦЕВ Н.А. О влиянии глутаминовой кислоты на некоторые показатели обмена у больных пневмосклерозом. Сб.: Новое в физиологии и патологии дыхания. М., 84, 1961
148. ЗАМОТАЕВ И.П. Влияние глутамата кальция на внешнее дыхание больных диффузным пневмосклерозом. Клиническая медицина, 5, 89, 1966
149. ЗАМОТАЕВ И.П. Влияние глутамата кальция на некоторые показатели гемодинамики больных диффузным пневмосклерозом. В сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты на организм в эксперименте и клинике. Свердловск, 100, 1966, а
150. ЗАМОТАЕВ И.П., УДИНЦЕВ Н.А., АСТАФЬЕВ Д.А. Уровень 17-оксикортикостероидов крови больных пневмосклерозом при введении глутамата кальция. Материалы 29 годичной научной сессии Свердловского медицинского института. Свердловск, 155, 1966
151. ЗАМОТАЕВ И.П., УДИНЦЕВ Н.А., АСТАФЬЕВ Д.А. Уровень 17-оксикортикостероидов крови в эксперименте и у больных пневмосклерозом при введении глутаминовой кислоты. Пат. физиол. и экспер. мед. 9, 3, 76, 1967.

- I52. ЗАМОТАЕВ И.П. Хронические пневмонии с диффузным пневмосклерозом у рабочих-металлургов. Докт. дисс. Свердловск, 1968
- I53. ЗЕЛЕЗИНСКАЯ Г.А. К вопросу о локализации трансаминаз в митохондриях. Д.А.Н. СССР, II, 2, 179, 1967
- I54. ЗИМАКОВА Н.И., ВИНОГРАДОВ А.Д. Кинетические константы сукцинатдегидрогеназы. Сб.: Второй Всесоюзный биохимический съезд. Тезисы секционных сообщений. Ташкент, 8, 10, 1969
- I55. ЗИМАКОВА Н.И., ВИНОГРАДОВ А.Д. Кинетические константы сукцинатдегидрогеназной фракции и реконструкция сукцинатдегидрогеназы из её отдельных компонентов. Сб.: Митохондрии, структура и функции в норме и патологии. "Наука", М., 189, 1971
- I56. ИБОЯН С.Р. Уровень глутаминовой кислоты у детей первого года жизни, больных пневмонией. Педиатрия, 8, 67, 1969
- I57. ИВАНОВ В.И., РОЗЕНБЕРГ П.Я. Влияние глутаминовой кислоты на содержание фосфорных соединений в мозгу. Бюллетень эксп. биол. и мед. 39, № 2, 33, 1955
- I58. ИВАНОВ К.П. Кислородное голодание и температура тела. II. "Наука", Ленинград, 1968
- I59. ИДЕЛЬСОН Л.И., ЖУКОВСКАЯ Е.Д. К вопросу об эритропоэтическом действии кобальта при анемиях. Проблемы гематологии и переливания крови, 10, 1, 3, 1965
- I60. ИДЕЛЬСОН Л.И. Нарушения перфиринового обмена в клинике. Медицина, Л., 1968
- I61. ИЛЬИН В.С. Центральное регулирование и адаптация обмена клетки у высших организмов. В сб.: Молекулярная биология (проблемы и перспективы). Наука, М., 323, 1964
- I62. КАЗАКОВА Т.Б. Молекулярная структура и проницаемость митохондриальных мембран. Успехи современной биологии, 60, 2, 198, 1965
- I63. КАМАЛАН Р.Г., МОВСЕЯН С.Г. Некоторые вопросы регуляции обмена глутамата, аспартата и γ -аминомасляной кислоты в митохондриальной фракции мозговой ткани. Вопросы биохимии мозга, Ереван, 1, 2, 40, 1966
- I64. КАНЧУХ А.А., ИВАНОВА В.С. Влияние токсина с чумного микроба на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени крыс. Сб.: Митохондрии. Биохимические функции в системе клеточных орган. "Наука", М., 246, 1969
- I65. КАРНАУХОВ В.Н. Микроспектральные исследования метаболизма гигантских нейронов большого прудовика. В сб.: свойства и функции макромолекул и макромолекулярных систем. "Наука", М., 200, 1969
- I66. КАССИРСКИЙ И.А., АЛЕКСЕЕВ Г.А. Клиническая гематология. Медицина, М., 1970

167. КЕНДЫШ И.Н. О влиянии гидрокортизона на обмен пирувата -2-C¹⁴ у крыс. Пробл. эндокр., 16, № 2, 89, 1969
168. КЛЕЙН И.Е. Окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты и её количественное распределение в разных отделах головного мозга. Сообщ. АН СССР, 15, 13, 1954
169. КЛЕЙН Е.Э. Глутаминовая кислота в обмене веществ головного мозга. Успехи современ. биологии, 41, № 2, 161, 1956
170. КЛИНГЕНБЕРГ М., ШОЛМЕЙЕР П. Окислительно-восстановительные реакции в митохондриях, зависящие от АТФ. В сб.: У Междунар. биохимический конгресс. АН СССР, М., 5, 55, 1962
171. КЛОСОВСКИЙ Б.Н., РУССКИХ В. К вопросу о применении глутаминовой кислоты при недоразвитии мозга типа болезни Дауна. Педиатрия, № 2, 42, 1955
172. КОВАЛЕНКО Е.А. Изменение напряжения кислорода в тканях при гипоксии. Дисс. докт. мед. наук., М., 1966
173. КОВАЛЕНКО Е.А. О теории динамики кислорода в тканях. Сб.: Кислородный режим организма и его регулирование, Киев, 167, 1966, а
174. КОВАЛЕНКО Е.А. Изменение напряжения кислорода в тканях мозга при действии на организм высоты и перегрузок. Сб.: Полярнографическое определение кислорода в биологических объектах. Киев, 53, 1972
175. КОГАН И.Б. Полярнографический анализ в промышленно-санитарной химии. Медгиз, М., 1961
176. КОЗЫРЕВА Е.В., МИТЮШИН В.М. О взаимосвязи ультраструктуры и функционального состояния митохондрий печени крыс. В кн.: Митохондрии. Структура и функция в норме и патологии. М., "Наука", 113, 1971
177. КОЛЬТГОФ И.М., ЛИНГЕЛМ Д.Д. Полярнография. Госхимиздат. М.-Л, 1948
178. КОМЕТИАНИ П.А. Связь окисления глутаминовой кислоты с синтезом ацетилхолина в экстрактах головного мозга. Сообщ. АН СССР, 12, 17, 1951
179. КОМЕТИАНИ П.А. Обмен аминокислот в головном мозгу. В кн.: Обмен аминокислот, Тбилиси, 99, 1967
180. КОНДРАШОВА М.Н. Принципиальные преимущества полярнографического метода для изучения тканевого дыхания и пути совершенствования твердых электродов. Сб.: Материалы к научной конференции по определению напряжения кислорода в живых тканях полярнографическим методом в эксперименте и клинике. Горький, 40, 1964
181. КОНДРАШОВА М.Н., АНАНЕНКО А.А., ГЕРШКОВИЧ В.И. Применение полярнографического метода для изучения тканевого дыхания при

- экспериментальной пневмонии. Конф. по пробл. "Применение новых физико-химических методов анализа в биологии и медицине. Ростов-на-Дону, 16, 1965
182. КОНДРАШОВА М.Н., ОЗРИНА Р.Д., НИКОЛАЕВА Л.В. Транспорт электронов и накопление энергии в дыхательной цепи как переменнo-сопряженные процессы. I. Обзор экспериментальных данных. Сб.: Митохондрии. Структура и функции, Наука, М., 121, 1966
183. КОНДРАШОВА М.Н. Некоторые вопросы изучения окисления и кинетики биохимических процессов. Сб.: Митохондрии. Биохимия и морфология. "Наука", М., 137, 1967
184. КОНДРАШОВА М.Н. Неоднозначность реакции дыхательной цепи на действие ингибиторов и активаторов. Сб.: Механизмы дыхания, фотосинтеза и фиксации азота. "Наука", М., 99, 1967, а
185. КОНДРАШОВА М.Н. Биохимический цикл возбуждения. Митохондрии, ферментативные процессы и их регуляция. Наука, М., 130, 1968
186. КОНДРАШОВА М.Н., РОДИОНОВА М.А. Субстрат окисления как регулятор энергопродукции в дыхательной цепи. Тр. II Всесоюзн. биох. съезда VIII, 4, I, 241, 1969
187. КОНДРАШОВА М.Н. Предпосылки к проверке предположения о специфической роли янтарной кислоты в обеспечении энергией восстановительных процессов после рабочего акта (при физиологическом торможении). Путино, 1969, а
188. КОНДРАШОВА М.Н. Метаболические состояния митохондрий и основные физиологические состояния живой ткани. В сб.: Свойства и функции макромолекул и макромолекулярных систем. М., Наука, 135, 1969, б
189. КОНДРАШОВА М.Н. Регуляция дыхания митохондрий при усиливающемся воздействии на клетку. Биофизика, 15, № 2, 323, 1970
190. КОНДРАШОВА М.Н. Градации метаболического состояния митохондрий и реактивность тканей. В кн.: Митохондрии. Структура и функции в норме и патологии. Наука, М., 25, 1971
191. КОНДРАШОВА М.Н., РОДИОНОВА М.А. Реализация глиоксилатного цикла в митохондриях ткани животного. Докл. АН СССР, 196, № 5, 1225, 1971, а
192. КОНДРАШОВА М.Н., МАЕВСКИЙ Е.И., БАБАЯН Г.В., СААКЯН И.Р., АХМЕРОВ Р.Н. Адаптация к гипоксии посредством переключения метаболизма на превращения янтарной кислоты. Сб.: Митохондрии. Материалы симпозиума 1971 а (в печати).
193. КОНДРАШОВА М.Н., МИРОНОВА Г.Д. Необходимость кислорода для фосфорилирования АДФ в условиях цианидного блока. Биохимия, т. 36, № 4, 864, 1971 б

194. КОНДРАТОВА М.Н. Накопление и использование янтарной кислоты в митохондриях. В сб.: Митохондрии, молекулярные механизмы ферментативных реакций. Наука, М., 151, 1972
195. КОПЫТИН Б.М. Тканевое дыхание и активность сукцинатдегидрогеназы печени белых крыс при гипоксических состояниях. Бюлл. экспорим. биол. и мед., 35, 8, 35, 1952
196. КОТОВСКИЙ Е.Ф., ШИМОВИЧ Л.Л. Функциональная морфология при экспериментальных воздействиях. Проблемы космической медицины, т-15, 1971
197. КРЕБС Г., КОРНБЕРГ Г. Превращение энергии в живых клетках. И. Л.-М., 1959
198. КРЕПС В.М., СМЕРНОВА А.А., ЧЕТВЕРИКОВ Д.А. Новые данные по сравнительному изучению фосфорного обмена в разных отделах головного мозга и при разных функциональных состояниях, вызванных кислородным голоданием мозга. В кн.: Биохимия нервной системы. Киев, 125, 1954
199. КРЕПС В.М., ВЕРЖИНСКАЯ Н.А., ЧЕНЫКАЕВА Е.Ю., ГИРКОВСКАЯ Е.В., ГАВУРИНА Ц.К. О приспособлении животных к хронической гипоксии. Физиол. журн. СССР, 42, 2, 149, 1956
200. КРЕПС В.М., ВЕРЖИНСКАЯ Н.А., ЧЕНЫКАЕВА Е.Ю., ГИРКОВСКАЯ Е.В., ГАВУРИНА Ц.К. О приспособлении животных к гипоксии. Физиол. журн., СССР, 41, 6, 456, 1956 а
201. КРЕТОВИЧ В.Л. Введение в энзимологию. Наука, М., 1967
202. КРИЦМАН М.Г., МЕЛИК-САРКИСЯН С.С. Синтез аминокислот из кетокислот и аммиака в печени и почках. Биохимия, 13, 3, 228, 1948
203. КРИЦМАН М.Г., КОНИКОВА А.С. Индукция ферментов в норме и патологии. "Медицина", М., 1968
204. КРИКОВА Т.А., СИНЯКОВА С.И., АРЕФЬЕВА Т.В. Полярнографический анализ. М., 1959
205. КУЛИКОВА А.И. Влияние гипоксии на содержание компонентов адениловой системы в скелетных мышцах и сердце крыс. Вопросы мед. химии, 12, 6, 606, 1966
206. КУФФ В., ШНЕЙДЕР В. Внутриклеточное распределение ферментов. Биохимическая гетерогенность митохондрий. Проблемы цитобиологии. И.И.Л., М., 226, 1957
207. ЛАЗИДИ Г.Х., ГРИГОРАШ Г.А., СОРОКА А.М. Состояние уровня напряжения кислорода в тканях больных хроническими неспецифическими заболеваниями легких. Сб.: Полярнографическое определение кислорода в биологических объектах, Киев, 55, 1972
208. ЛАРИОНОВ Н.П. Мобилизация и восстановление гликогена миокарда при высотной гипоксии и компенсаторной гиперфункции сердца

Автореферат канд. дисс. М., 1968

209. ЛАСИЦА О.И., КОВАЧ В.П. Белковосинтезирующая функция печени при пневмонии. *Вопр. охр. материнства и детства*, 13, 8, 24, 1968
210. ЛАУЕР Н.В., КОЛЧИНСКАЯ А.З. О кислородном режиме организма. Кислородный режим организма и его регулирование. Киев, 3, 1966
211. ЛЕНИНДЖЕР А. Промежуточные ферментативные реакции сопряжения фосфорилирования и переноса электронов. Труды Пятого Международного биох. конгресса. Сопл. 5. АН СССР, 253, 1962
212. ЛЕНИНДЖЕР А. Связанные с дыханием механикохимические изменения в митохондриях. В кн.: Горизонты биохимии, "Мир", М., 326, 1964
213. ЛЕНИНДЖЕР А. Митохондрия. М., "Мир", 1966
214. ЛЕНКОВА Р.И. Влияние мышечной деятельности различной длительности на окислительное фосфорилирование митохондрий скелетных мышц. *Цитология*, 10, 1, 102, 1968
215. ЛИТВИН А.А. Применение глутаминовой кислоты при хронических формах психических заболеваний. Тр. конф. по производству и использованию аминокислот в медицине. МГУ, 74, 1956
216. ЛУЗНИКОВ В.П., РАХИМОВ М.М., БЕРЕЗИН И.В. О молекулярной организации дыхательной цепи митохондрий. Докл. АН СССР, 178, 2, 471, 1968
217. МАЕВСКИЙ Е.И. Влияние гипоксии и глутамата на реакции дыхательной цепи митохондрий некоторых органов. Канд. дисс., Свердловск 1970
218. МАЙСТЕР А. Биохимия аминокислот. И.И.Л., М., 1961
219. МАЙОРОВА Б.О., ЯКОВЛЕВА А.Н. О применении глутаминовой кислоты у новорожденных детей при явлениях нарушения внутричерепного кровообращения. 9-я научная сессия ин-та акушерства и гинекологии АМН СССР, 89, 1957
220. МАКАРОВА А.Ф. Влияние различного характера мышечной деятельности на АТФ-азную активность миозина. *Укр. биох. журн.*, 30, 2, 230, 1958
221. МАК-ШЕН В.Х. Дегидразы. В кн.: Дыхательные ферменты, И.Л. М., 149, 1952
222. МАЛЮК В.И. Активность цитохромоксидазы органов морской свинки при аноксии. *Укр. биох. журн.*, т. 37, № 3, 409, 1965
223. МАМАЕВА В.В. Содержание дикарбоновых аминокислот и их амидов в животном организме. *Биохимия*, № 4, 20, 450, 1955
224. МАКАРОВА Е.А., ОГИЙ Л.П. Влияние адреналэктомии на напряжение кислорода в тканях. В сб.: Полярнографическое определение кислорода в биологических объектах. Киев, 63, 1972

225. МАРШАК М.Е. Физиологическое значение углекислоты. Медицина, М., 1969
226. МАТЮШИН И.Ф., ХВАТОВА Е.М., ОВСЯННИКОВ В.Я. Активность дыхательных ферментов и морфологические изменения миокарда при оперативных вмешательствах. 2-я Всесоюзная конференция по биохимии мышечной системы. Л., 136, 1972
227. МАШАНСКИЙ В.Ф., КАМИССАРЧИК Я.Ю., ВИННИЧЕНКО Л.Н., МОСЕВИЧ Т.Н., ДУНАЕВА С.Е. О различных изменениях ультраструктуры митохондрий в связи с функциональными особенностями клетки. В кн.: Митохондрии, структура и функция в норме и патологии. М., Наука, 9, 1971
228. МЕРСОН Ф.З. Физиология и молекулярная биология. "Знание", М., 1970
229. МИХЛИН Д.М. Биохимия клеточного дыхания. И.АН СССР, 1960
230. МОВСЕСЯН С.Г. Действие гамма-аминомасляной кислоты на поглощение глюкозы различными тканями. Сб.: Вопросы биохимии. И.АН Арм.ССР Ереван, 103, 1961
231. МОНАХОВ Н.К. О функциональной гетерогенности митохондрий нормальной и опухолевой клеток. Митохондрии, структура и функция, Наука, М., 45, 1966
232. НАЗАРЕНКО А.И., БЕРЕЗОВСКИЙ В.А. Влияние острого выключения портального и артериального кровотока на напряжение кислорода и тканевое дыхание печени у разных млекопитающих. Ж. эволюц. биохимии и физиол., 5, 3, 293, 1969
233. НАЗАРЕНКО А.И. Исследование процессов окислительного фосфорилирования при циркуляторной гипоксии в тканях печени и мозга белых крыс. Физиол. журн., 16, № 4, 519, 1970
234. НАЗАРЕНКО А.И. Полярнографическое определение тканевого дыхания печени и почек животных при циркуляторной гипоксии. Сб.: Полярнографическое определение кислорода в биологических объектах, Киев, 75, 1972
235. НАЗАРОВА Э.М., ЭДЕЛЬШТЕЙН Э.А. Применение аминокислот при лечении некоторых заболеваний нервной системы у детей. Труды конференции посвященной 40-летию научных исследований в области белка и применения аминокислот в советской медицине. М., 202, 1958
236. НЕЙФАХ С.А. "Мембранная" гипотеза регуляции энергетического обмена клетки. I Всесоюзный биохимический съезд, АН СССР, вып. 79, 1964
237. НИКОЛАЕВА Л.В., КОНДРАШОВА М.Н. Схема первичной оценки функционального состояния митохондрий в зависимости от функциональной нагрузки на дыхательную цепь. Сб.: Митохондрии. Структура и функция, "Наука", 83, 1966

238. НИКОНОВА В.А., СПИЛИОТИ З.И., ЭПШТЕЙН М.М., ДМИТРИЕНКО Н.П. Влияние аскорбиновой кислоты на углеводно-фосфорный обмен при экспериментальной гипоксии. Врач. дело, 2, 140, 1966
239. НИЛОВА Н.С. Аммиак и ГАМК-трансаминазная активность ткани головного мозга. Д. АН СССР, 166, 2, 483, 1966
240. НИЛОВА Н.С. Влияние аммиака и ацетилхолина на аспартат-аминотрансферазную активность ткани головного мозга. Вопросы мед. химии, 12, 5, 514, 1966,а
241. НИСЕЛОВСКАЯ Л.И. Влияние введения дифтерийного токсина на процессы окислительного фосфорилирования. Сб.: Фосфорилирование и функция. ЦЭМ., М., 363, 1960
242. ОГАНЕСЯН А.С. Влияние глутаминовой кислоты на некоторые стороны деятельности почек. Известия АН Арм.ССР, Биолог. науки, XI, № 1, 69, 1961
243. ОСТРЕЦОВА И.Б., СЫТИНСКИЙ И.А., Декарбоксилаза глутаминовой кислоты. Укр. биох. журн., 34, 3, 456, 1962
244. ОСТРОВСКАЯ Л.И. Изменения в жировом обмене организма при пониженном парциальном давлении кислорода. Тезисы докладов конференции по вопросам гипоксии и биохимии нервной и мышечной систем. Л., 34, 1962
245. ОСТРОВСКИЙ Д.Н., ГЕЛЬМАН Н.С. Определение концентрации кислорода в биологических жидкостях методом полярографии с неподвижным твердым электродом. Биохимия, 27, 3, 532, 1962
246. ПАЛКИНА Н.А. Митохондрии. В кн.: Цитология. Общая генетика. Генетика человека. 15. (Итоги науки. Сер. биол.). М., 1971
247. ПАНОВ А.Н., ФОНИО А. Влияние кортикостероидных гормонов на активность НАД.Н₂-оксидазы митохондрий мозга и сердца крыс. Укр. биох. журн., 38, 6, 567, 1966
248. ПАНОВ А.Н. К механизму действия кортикостероидных гормонов на обмен митохондрий мозга и сердца крыс. Укр. биох. журн., 40, № 1, 3, 1968
249. ПЕТРОВ И.Р. О роли нервной системы при кислородном голодании. Кислородное голодание при измененной реактивности организма. Л., Медгиз, 1952
250. ПЕТРОВ И.Р. Роль центральной нервной системы, адреногипофиза и коры надпочечников при кислородной недостаточности. Л., Медицина, 1967
251. ПЕТУХОВ М.И. Влияние гипоксии и АКГТ на состояние углеводного резерва тканей белых крыс. Бюлл. экспер. биол. и мед., 49, 3, 57, 1960

252. ПОКРОВСКИЙ А.А., АРЧАКОВ А.И. Методы разделения и ферментативной идентификации субклеточных фракций. Современные методы в биохимии. Медицина, М., 1, 5, 1968
253. ПОКРОВСКИЙ А.А., АРЧАКОВ А.И., МУХАМБЕТОВА Л.Х. Изменение активности митохондриальных ферментов при ишемии печени. Цитология, 11, № 1, 121, 1969
254. ПОКРОВСКИЙ А.А., АРЧАКОВ А.И., МУХАМБЕТОВА Л.Х., БУРМАНТОВА Н.П., АЛЕНИЧЕВА Т.В. Дифференцированное определение активности индикаторных ферментов митохондрий, эндоплазматической сети и лизосом как метод изучения состояния мембран данных структур. В сб. Митохондрии, М., Наука, 131, 1971
255. ПОЛЕТАЕВА К.А. Активность аспартат- α -кетоглутарат и аланин-кетоглутарат трансминаз коркового слоя почки крыс после введения им гидрокортизона при голодании и аллоксановом диабете. Вopr. мед. химии, 15, 3, 227, 1969
256. ПОЛИКАРПОВА Л.И. Действие гидрокортизона и инсулина на активность аланин- и аспартат- α -кетоглутарат трансминаз в печени крыс самцов разного возраста, нормальных и кастрированных. Пробл. эндокринологии, 15, 2, 90, 1969
257. ПОЛИКАРПОВА Л.И. Действие гидрокортизона и инсулина на активность аланин- и аспартат-трансминаз печени крыс разного возраста. В сб.: Ферменты в эволюции животных, Л., Наука, 26, 1969, а
258. ПОЛЯНОВСКИЙ О.Л., ТЕЛЕГДИ М. О функциях тиоловых групп аспартат-глутамат трансминазы. Биохимия, 30, 1, 174, 1965
259. ПОЛЯНОВСКИЙ О.Л., ШИКИТЕР В.О. Диссоциация аспартаттрансминазы на субъединицы в кислой и щелочной среде. Д. АН СССР, 163, 4, 1011, 1965
260. ПОЛЯНОВСКИЙ О.Л., ВОРОТНИЦКАЯ Н.Е. Сравнительное исследование методом пептидных карт двух аспартаттрансминаз различного происхождения. Биохимия, 30, 619, 1966
261. ПОЛЯНОВСКИЙ О.Л., МАКАРОВА Л.С. Четвертичная структура и каталитическая активность аспартат-трансминазы. Биохимия, 31, 2, 372, 1966, а
262. ПОЛЯНОВСКИЙ О.Л. Микромолекулярная структура аспартат-трансминазы. В кн.: Химия и биология пиридоксалевого катализа. М., 100, 1968
263. ПОПОВ В.Л. Внутритканевой газовый гомеостаз у белых крыс в норме и при действии некоторых экстремальных факторов среды. Сб.: Полярнографическое определение кислорода в биологических объектах. Киев, 83, 1972

264. ПОПКОВ В.Л., ЛАКОТА Н.Г., ДУХОВА З.Н. Транспорт O_2 и CO_2 в организме при медленном нарастании гипоксии и гиперкапнии. Сб. Полярнографическое определение кислорода в биологических объектах. Киев, 85, 1972
265. ПОПОВ И.П. Активность дыхательных ферментов при гипоксической гипоксии. В кн.: Нейро-гуморальная регуляция в норме и патологии. Ужгород, 192, 1965
266. ПОПОВ И.П. Соотношение микроэлементов и активности дыхательных ферментов при острой гипоксической гипоксии. Патол. физиология и эксперим. терапия, т-19, № 6, 38, 1966
267. ПОПОВ И.П. Изменение содержания меди, цинка, кобальта, железа и активности ферментов в тканях при некоторых формах гипоксии. Тезисы докл. (3-я Укр. конф. патофизиологов) Одесса, 166, I 1966
268. ПОПОВ И.П. Активность окислительно-восстановительных ферментов и содержание микроэлементов в организме животных при острой форме гипоксической гипоксии. Тез. докл. (Итоговая научн. конф. Донецкого мед. ин-та) Донецк, 74, 1966, б
269. ПРОТАСОВА Т.Н. Роль кортикостероидов в адаптивном изменении активности ферментов. В сб.: Современ. вопр. эндокринол., вып. 3, М., Медицина, 117, 1969
270. ПРОТОДЬЯКОВА Т.Н. Влияние кофеина на углеводно-фосфорный и окислительный обмен при гипоксии. Сб.: Второй Всесоюз. биох. съезд. Тезисы секцион. сообщ., 21, 1969
271. ПРОХОРОВА М.И., БРОДСКАЯ Н.И., СОКОЛОВА Г.П. Интенсивность обмена гликогена и глюкозы в головном мозгу и печени при кислородной недостаточности. Вопр. мед. химии, 3, 4, 279, 1957
272. ПРОХОРОВА М.И., ТУПИКОВА З.Н. Большой практикум по углеводному и липидному обмену. Изд. ЛГУ, 1965
273. ПУЛАТОВ Р.П., КОМИЛОВ И.К. Влияние различных комплексных соединений солей кобальта на картину крови животных с экспериментальной анемией. Мед. журнал Узбекистана, 12, 42, 1963
274. ПУЛАТОВ Р.П. Фармакология некоторых комплексных соединений кобальта. Автореферат канд. дисс. Ташкент, 1964
275. ПУТИЛИНА Ф.Е. Обмен глюкозы, пирувата и ацетата в мозге и печени в норме и при гипоксии. Автореф. канд. дисс. Л., 1965
276. ПУШКИНА Н.Н. Биохимические методы исследования. "Медицина", М., 1963

277. БАЙСЖИНА М.Е., МЕЛЬНИЧЕНКО В.П. Действие адреналина на PO_2 и pH в крови коронарного синуса. Сб.: Полярографическое определение кислорода в биологических объектах. Киев, 88, 1972
278. РАЧЕВ Р.Р. Митохондрии и тиреоидные гормоны. "Медицина", Л., 1969
279. РЕККЕР Э. Ферменты как объекты химических исследований. В сб.: Современные проблемы биохимии, И.И.Л., М., 192, 1961
280. РОБЕРТС Е. Новые попытки в раскрытии биохимических и физиологических корреляций в исследованиях системы гамма-аминомасляной кислоты. Вопросы биохимии мозга, Ереван, т-3, 28, 1967
281. РОСОЛОВСКИЙ Н.А., БЕЛОУСОВА С.С., ПОДДУБНАЯ И.Г., СОРОКИНА Л.М. К вопросу о механизмах тканевой адаптации и гипоксии. Сб.: Второй Всесоюзный биох. съезд. Тезисы секц. сообщ. "ФАН" Ташкент, 8, 26
282. РУДИЧЕНКО В.Ф. Действие адреналина на дыхание и фосфорилирование митохондрий миокарда. Сб.: Полярографическое определение кислорода в биологических объектах, Киев, 89, 1972
283. РУССКИХ В. Случай врожденного порока сердца и результаты применения при нем глутаминовой кислоты. Сб.: Труды конф. по производству и использованию аминокислот в медицине. МГУ, М., 179, 1956
284. РУТМАН М.Г. Трансаминазы печени различных позвоночных и гормональная регуляция их активности. Журн. эволюц. биохимии и физиол., 4, № 3, 294, 1968
285. РЯБОВ С.И. Основы физиологии и патологии эритропоэза. И. Медицина, Л., 1971
286. РЯБСКИЙ А.В., СЕМЕНОВ Б.Ф. Влияние гипоксии, гипероксии гипер- и гипоканнии на напряжение кислорода в тканях головного мозга. Сб.: Полярографическое определение кислорода в биологических объектах. Киев, 90, 1972
287. САНОЦКАЯ И.В. Напряжение кислорода в тканях как показатель соотношения между скоростью доставки кислорода и интенсивностью его утилизации. Сб. Полярографическое определение кислорода в биологических объектах. Киев, 93, 1972
288. САПОЖКОВ А.В. Действие глутаминовой и аспарагиновой кислот на коллатеральное кровообращение и напряжение кислорода в миокарде. Журн. Пат. физиол. и эксперим. терапия 12, 5, 20, 1968
289. САРКИСОВ Д.С., ВТЮРИН В.В. Электронно-микроскопический анализ повышения выносливости сердца. "Медицина", М., 1969
290. СЕВЕРИН С.Е. Образование и использование богатых энергией фосфорных соединений в мышечной ткани в норме и при некоторых патологических состояниях. Успехи современной биологии, 48, 2, 123, 1959
291. СЕВЕРИН С.Е., ЯН.ФУЙ-ЮЙ. Окислительное фосфорилирование при тиреотоксикозе. Биохимия, 25, 855, 1960

292. СЕВЕРИН С.Е., ЦЕЙТЛИН Л.А. Анаэробное превращение углеводов в ткани сердечной мышцы в норме и при экспериментальном миокардите. *Вопр. мед. химии*, 7, вып. 2, 201, 1961
293. СЕВЕРИН С.Е., ЦЕЙТЛИН Л.А. Особенности анаэробного обмена углеводов в мышце сердца. *Сб.: Углеводы и углеводный обмен. АН СССР, М., 118, 1962*
294. СЕВЕРИН С.Е. Биологическое окисление и окислительное фосфорилирование. *Сб.: Химические основы процессов жизнедеятельности. Медгиз, М., 156, 1962*
295. СЕВЕРИН С.Е. Энергетическое обеспечение физиологических функций. *X съезд Всесоюзного физиологического общества им. И.П. Павлова АН СССР, 1964*
296. СЕВЕРИН С.Е. Молекулярные основы регуляции ферментативной активности. *Известия АН СССР, серия биологическая, № 6, 797, 1969*
297. СЕВЕРИН С.Е., СКУЛАЧЕВ В.П., МАСЛОВ С.П., БЕНЕДИКТОВ И.И., ШЕСТАКОВ В.Г. Терморегуляторное разобщение дыхания и фосфорилирования. *Д. АН СССР, 131, 1447, 1969*
298. СЕЛЪЕ Г. Очерки об адапционном синдроме. *М., 1960*
299. СИМАНОВСКИЙ Л.Н., ЛИВШИЦ Н.М. Изменение гликолиза в тканях мозга при тренировке к гипоксии. *Вопр. мед. химии, 15, № 1, 66, 1969*
300. СИМАНОВСКИЙ Л.Н., ЧОТОВЕВ Ж.А. Влияние гипоксии на скорость гликогенолиза и гликолиза в головном мозгу крыс. *Ж. эволюц. биохимии и физиол., 6, № 5, 577, 1970*
301. СИРОТИНИН Н.Н. Основные положения профилактики и терапии гипоксических состояний. *Сб.: Физиология и патология дыхания, гипоксия и оксигенотерапия. Киев, 82, 1958*
302. СИРОТИНИН Н.Н. Некоторые итоги изучения красной крови на горных высотах. *Сб.: Горы и система крови, Фрунзе, т-68, 74, 1971*
303. СКУЛАЧЕВ В.П. Соотношение фосфорилирования и окисления в дыхательной цепи. *И. АН СССР, М., 1962*
304. СКУЛАЧЕВ В.П. Сопряжение дыхания и фосфорилирования в дыхательной цепи; его механизм и регуляция. *I Всесоюзный биох. съезд. И. АН СССР, 73, 1964*
305. СКУЛАЧЕВ В.П. Роль адениннуклеотидов в фосфорилирующем дыхании и физиологические функции окислительных процессов. *Успехи биологической химии, 6, 180, 1964, а*
306. СКУЛАЧЕВ В.П., ЕВТОДИЕНКО Ю.В., СМЕРНОВА Е.Г., ЧИСТЯКОВ В.В., ЯСАЙТИС А.А. О механизме фосфорилирующего окисления в дыхательной цепи. *Сб.: Митохондрии, структура и функция. Наука, М., 100, 1966*

307. СКУЛАЧЕВ В.П. Энзимологические аспекты проблемы окисления и фосфорилирования. Механизмы дыхания, фотосинтеза и фиксации азота. Наука, М., 7, 1967
308. СКУЛАЧЕВ В.П. Аккумуляция энергии в клетке. Наука, М., 1969
309. СКУЛАЧЕВ В.П. О механизме энергетического сопряжения в цепи окислительных ферментов и "митохондриальном электричестве". Сб.: II Всесоюзный биохимический съезд. Ташкент, 222, 1969, а
310. СКУЛАЧЕВ В.П. Энергетические механизмы внутриклеточного дыхания. Наука, М., 1971
311. СКУЛАЧЕВ В.П. Трансформация энергии в биомембранах. Наука, М., 1972
312. СКРЯБИН В.В., БОМАН М.А., ПАМПУРА Н.А. К вопросу о значении глутаминовой кислоты как стимулятора окислительно-восстановительных процессов при мышечной работе. Сб.: Эндокринные механизмы регуляции приспособления организма к мышечной деятельности. Тарту, 174, 1969
313. СЛАВКИНА В.М. Глутаминовая кислота при лечении детей, больных ревматизмом. Сб.: Актуальные вопросы детской патологии. Саратов, 45, 190, 1965
314. СЛАЙТЕР Э., ХЮЛЬСМАН У. Регуляция внутриклеточного дыхания. Регуляция внутриклеточного обмена. М., 75, 1962, а
315. СМЕРНОВ М.И., ПЛОХОЙ В.И., ПУШКИНА Л.А. Влияние кортикостероидных гормонов на содержание НАД в митохондриях и окислительное фосфорилирование. Тр. VI научной сессии ГИИ и Всесоюзного симпозиума по тиамину. Минск, 221, 1966
316. СМОЛДНА Т.Н., СОГРИНА К.А. Некоторые биохимические показатели мочи новорожденных, страдающих нарушением мозгового кровообращения при различных способах лечения. Сб.: Объединенная научная сессия Свердловского института ОММ и Московского института акушерства и гинекологии, Свердловск, 88, 1958
317. СТРУЧКОВ А.И., МИТИН К.С., Митохондрии гипертрофированного сердца человека. В кн.: Митохондрии, структура, и функции в норме и патологии. М., Наука, 18, 1971
318. СТУРУА Г.Г. Азотистый обмен при кислородной недостаточности. Авторефер. канд. дисс., М., 1954
319. СУЛИМО-САМУЙЛО З.К. Влияние пониженного парциального давления кислорода на тканевое дыхание. Дисс. канд. наук, Л., (ВМА), 1952
320. СЫТИНСКИЙ И.А. Система гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) в нервной системе беспозвоночных животных. Успехи современ. биол. 70, № 3, 325, 1970

321. ТАЙЦ Ю.А. Влияние кортизона на сукцинатдегидрогеназную и цитохромоксидазную активность митохондрий больших полушарий головного мозга. В кн.: Нервные и гуморальные механизмы рефлекторных реакций, Минск, 208, 1968
322. ТАРВЕ У.С. Нарушение в мозгу окислительного фосфорилирования и некоторых этапов трикарбонового цикла при экспериментальном накоплении аммиака и влияние глутаминовой кислоты и витамина С. III Всесоюзн. конф. по биох. нервн. системы. И. АН Арм. ССР, Ереван, 271, 1963
323. ТИГРЯН Р.А. Особенности поглощения кислорода митохондриями мозга при некоторых экстремальных воздействиях. Сб. Полярнографическое определение кислорода в биологических объектах. Киев, 109, 1972
324. ТОЛЕЙКИС А.М., ПРАШКЯВИЧУС А.К. Окислительное фосфорилирование в сердечных митохондриях при экспериментальном инфаркте миокарда и парэнтеральном введении фибриносоля. В кн.: Митохондрии, структура и функции в норме и патологии. М., 99, 1971
325. ТОМКИНС Г., ИЛДИНГ К. Структурные изменения глутаматдегидрогеназы как механизм регуляции её активности. В сб.: Регуляторные механизмы клетки. Мир, М., 459, 1964
326. ТОРЧИНСКИЙ Ю.М., БРАУНШТЕЙН А.Б. О роли сульфгидрильных групп в поддержании каталитической активной структуры аспартат-глутамат-трансаминазы. Д. АН СССР, 148, 4, 952, 1963
327. ТОРЧИНСКИЙ Ю.М. Исследование физикохимических свойств трансаминаз и специфических реакций их активного центра. Докт. дисс., М., 1964
328. ТОРЧИНСКИЙ Ю.М., ПОЛЯНОВСКИЙ О.Л. О роли SH-групп в трансаминазах и некоторых других ферментов. В сб.: Механизм и кинетика ферментативного катализа. М., 107, 1964
329. ТРОШИХИН Г.В., ИСААКЯН Л.И. Содержание свободного кислорода в мышечной ткани при дыхании гипоксическими смесями с различными инертными газами. Сб.: Полярнографическое определение кислорода в биологических объектах, Киев, 112, 1972
330. УДИНЦЕВ Н.А., МАЗУРИК В.К. Влияние глутаминовой кислоты на активность некоторых дыхательных ферментов в условиях физической работы и в период отдыха после нее. В сб.: Третья Уральская конференция физиологов, биохимиков и фармакологов, посвященная 40-летию Удмуртской АССР, Ижевск, 158, 1960
331. УДИНЦЕВ Н.А. Влияние глутаминовой кислоты на активность некоторых тканевых ферментов в условиях гипоксии и физической нагрузки. Укр. биох. журн., 32, 6, 857, 1960, а

332. УДИНЦЕВ Н.А., НИЗОВИЦЕВ В.П., МОРОЗОВА Н.М., ТЮШЕВА А.Д., МАЗУРИК В.К. О механизме действия глутаминовой кислоты, как фактора, стимулирующего окислительные процессы в условиях гипоксии. В кн.: Новое в физиологии и патологии дыхания, М., 236, 1961
333. УДИНЦЕВ Н.А. О влиянии некоторых аминокислот на функцию системы гипофиз-кора надпочечников. Укр. биох. журн., 37, 1, 117, 1965
334. УДИНЦЕВ Н.А., НАУГОЛЬНЫХ Э.З., КОКАРЕВА Н.С. Синтез кортикостероидов в гомогенате коры надпочечников под влиянием некоторых аминокислот. Материалы 29 годичной научной сессии Свердловского медицинского института, г.Свердловск, 42, 1966
335. УДИНЦЕВ Н.А., НАУГОЛЬНЫХ Э.З., КОКАРЕВА Н.С. Влияние глутаминовой и некоторых других аминокислот на стероидогенез в коре надпочечников быка. В сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты на организм в эксперименте и клинике. г.Свердловск, 5, 1966, а
336. УДИНЦЕВ Н.А., АСТАФЬЕВ Д.А. Влияние глутаминовой кислоты на уровень гидрокортизона в крови морских свинок. В сб.: Вопросы гинекологической эндокринологии, г.Свердловск, выпуск 51, 101, 1966, б
337. УДИНЦЕВ Н.А. О механизме влияния глутаминовой кислоты и некоторых других аминокислот на функциональное состояние гипофизарно-надпочечниковой системы. Автореф. докт. дисс., Свердловск, 1968
338. УЖАНСКИЙ Я.Г. Значение эритродиореза в механизме новообразования эритроцитов. Докт. дисс. Л., 1941
339. УЖАНСКИЙ Я.Г. К механизму стимуляции кроветворения при гипоксиях. В кн.: Гипоксия. Киев, 219, 1949
340. УЖАНСКИЙ Я.Г. О регуляции регенерации крови и путях её изучения. Архив патологии, 18, 6, 29, 1956
341. УМБРЕЙТ В.В., БУРРИС Р.Х., ШТРАУФФЕР Д.Ф. Манометрические методы изучения тканевого обмена. И.И.Л., М., 1951
342. УОДКИНС С.Н. Степень окисления дыхательной цепи и реакция обмена АТФ-АДФ (C^{14}) в окислительном фосфорилировании. У Международного биохимического конгресса. Рефераты секционных сообщений. т-2, 411, ИАН СССР, М., 1961
343. ФЕРДМАН Д.Л. О процессах образования и устранения аммиака в животном организме. Усп. биол. хим., 1, 216, 1950

344. ФЕРДМАН Д.Л., ЭПШТЕЙН С.Ф. Об устранении введенного в организм аммиака. Укр. биохим. журн., 22, № 4, 481, 1950,6
345. ФЕРДМАН Д.Л. Глутамин и его место в азотистом обмене организма. Обмен аминокислот, Тбилиси, 84, 1967
346. ФРАНК Г.М. Структурно-функциональные соотношения в живой клетке в свете новых методов исследования. Вестник АН СССР, 2, 27, 1964
347. ФРОЛОВ В.А., АБИНДЕР А.А., ДОЛГУРОВ Е.А., КРЮКОВА И.В., ОВСЯННИКОВ А.М., ДВУРЕЧЕНСКИЙ Е.И., КАЗАНСКАЯ Т.А. О некоторых механизмах повышения степени функциональной гетерогенности миокарда — одного из основных условий возникновения фибрилляции желудочков сердца. В сб.: Фибрилляция и дефибрилляция. М., 44, 1966
348. ФРОЛЬКИС Р.А. Дыхательная цепь различных отделов сердца в норме и при инфаркте. 2-я Всесоюзная конференция по биохимии мышечной системы. АН СССР, Л., 224, 1972
349. ФРОЛЬКИС В.В., БОГАЦКАЯ Л.Н. Влияние янтарной кислоты на возрастные и патологические изменения энергетического обмена миокарда. 2-я Всесоюзная конференция по биохимии мышечной системы. АН СССР, Л., 223, 1972
350. ХАВКИНА И.В. Влияние тренировки к гипоксии на окислительное фосфорилирование в митохондриях миокарда белых крыс. Л. эволюц. биохимии и физиол., 5, № 3, 331, 1969
351. ХАРАКТЕР Ж.З. Влияние глутаминовой кислоты на обмен фосфорных соединений крови и мозга при экспериментальном туберкулезе. Журн. Проблемы туб., № 12, Медгиз, 70, 1963
352. ХАЧАТРЯН Л.Л. Исследование дыхания и фосфорилирования в сердечной мышце кролика при экспериментальном инфаркте миокарда. Вопр. мед. химии, 10, 2, 201, 1964
353. ХАЧАТРЯН Л.Л., АБАТУРОВА Н.А. Богатые энергией фосфорные соединения, креатинкиназная и АТФ-азная активность сердечной мышцы при экспериментальном инфаркте миокарда. Вопр. мед. химии, XI, 3, 26, 1965
354. ХВАТОВА Е.М., ШВЕЦ Н.А., СМЕРНОВА Г. Mg^{2+} — и ДНФ-стимулируемая АТФ-азная активность митохондрий мозга. В сб.: Митохондрии, М., Наука, 150, 1971
355. ХЕФТМАН Э. Биохимия стероидов. М., Мир, 1972
356. ХМЕЛЕВСКИЙ Ю.В. Активность тиминовых ферментов в условиях различной обеспеченности организма кислородом. В кн.: Кислородный режим организма и его регулирование. Киев, 333, 1966
357. ХМЕЛЕВСКИЙ Ю.В. Обмен тимина и активность тиминсодержащих ферментов в сердечной мышце при гипоксических состояниях. Сб.: Всесоюз. конф. по мышечной биохимии, АН СССР, Л., 136, 1966
- 358.

358. ХМЕЛЬКО А.Г. Дыхание сердечной мышцы при инфаркте миокарда. Сб.: Вопросы радиологии и патологии коронарного кровообращения. Киев, 148, 1960
359. ХОГЕВУМ Д., ШЕЙДЕР В. Цитоплазма. В кн.: Нуклеиновые кислоты. Мил. М., 102, 1957
360. ХРИТИНИНА К.М., ТКАЧЕВА Л.В., АКСЕНОВА Л.П. Некоторые стороны энергетического и жирового обмена сердечной мышцы собак при экспериментальном инфаркте и шунтировании левого желудочка. Сб.: Всесоюзная конф. по мышечной биохимии. АН СССР, Л., 135, 1966
361. ЦЕЙТЛИН Л.А. Никотинамидные кофферменты. Успехи биологической химии, Наука, М., т.8, 249, 1967
362. ЧАГОВЕЦ Н.Р. Биохимические изменения, вызываемые в мышцах однократной и повторной работой большой продолжительности. Укр. биох. журн., № 2, 204, 1959
363. ЧАГОВЕЦ Н.Р. Переменно-сопряженный характер окисления и фосфорилирования в митохондриях скелетных мышц при работе и отдыхе. В сб.: Митохондрии, М., Наука, 140, 1971
364. ЧАГОВЕЦ Н.Р. Авторегуляция энергетического обмена скелетных мышц при их деятельности. Материалы Всесоюзного симпозиума Регуляция обмена веществ при мышечной деятельности и выполнении спортивных упражнений. Л., 17, 1972
365. ЧАЗОВА Н.Р. О влиянии глутаминовой кислоты на процессы утомления людей разного характера труда. Сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты в эксперименте и клинике. Свердловск, 123, 1966
366. ЧАНС Б. Регуляционные характеристики ферментных систем. В сб. Регуляторные механизмы клетки. "Мир", М., 371, 1964
367. ЧАРНЫЙ А.М. Патопфизиология гипоксических состояний. М., 1961
368. ЧЕРНИГОВСКИЙ В.Н. Аклиматизация к пониженному барометрическому давлению как средство повышения устойчивости к различным экстремальным факторам. Сб.: Проблемы космической биологии. Наука, 8, 5, 1968
369. ЧЕТВЕРИКОВА Е.К. Окисление и образование ацетоновых тел при гипоксии. Сб.: Влияние кислородной недостаточности на обмен веществ в тканях. Л., 2, 32, 1962
370. ЧЕТВЕРИКОВА Е.К., ПЕТУХОВ М.И. Образование и окисление ацетоновых тел в тканях и изменение содержания гликогена и молочной кислоты при острой гипоксии. Вопр. мед. химии, 8, 4, 365, 1962

371. ЧЕЧУЛИН Ю.С., ГЛАГОЛЕВА В.В. Ультраструктура сердца на ранних стадиях экспериментального инфаркта миокарда. Д. АН СССР, 158, 2, 484, 1964
372. ПАБАДАШ А.А. Морфологическая (электронно-микроскопическая и гистохимическая) организация митохондрий в разные фазы клеточных функций. Митохондрии, структура и функции. Наука, М., 5, 1966
373. ШАМРАЙ Е.Ф., ВЕРХКРАТСКИЙ Н.С., КУЗЬМИНСКИЙ У.А., НИКОНОВА В.А. Влияние препарата витамина Р из шиповника на выносливость животных в условиях разреженной атмосферы. Вопр. мед. химии, 4, 2, 120, 1958
374. ШАНЬЕ Л. Механизм регуляции биосинтетической ℓ -треониндезаминазы -изоэнзимом по принципу обратной связи. В сб.: Регуляторные механизмы клетки, "Мир", М., 408, 1964
375. ШАНЫГИНА К.И. Влияние введения кортизона на окислительное фосфорилирование в экстрактах печени крыс. Ежегодник Института эксперимент. медицины АМН СССР, т-6-8, № 1, 2 и 3, 237, Л., 1963
376. ШАПОВ В.С. О природе особой чувствительности головного мозга к кислородной недостаточности. Усп. совр. биол., 34, 2(5), 245, 1952
377. ШАПОВ В.С., ГРОМОВА К.Г. Энергетический обмен головного мозга и проблема гипоксических состояний. В кн.: Биохимия нервной системы. Киев, 139, 1954
378. ШЕСТАКОВСКАЯ И.В., ГАЙДА Е.А. Влияние ионизирующей радиации и радиомиметиков на уровень прочно связанных фосфолипидов печени животных. В сб.: Биол. действие радиации, вып. 4., Львов, 80, 1969
379. ШЕСТРАНД Ф. Ультраструктура митохондрий. Проблемы цитофизиологии. И.И.Л.М., 100, 1957
380. ШЕСТРАНД Ф. Ультраструктура клеток, наблюдаемая в электронном микроскопе. Вопросы электронной микроскопии тканей, И.И.Л., 9, 1959
381. ШЕСТРАНД Ф. Морфология упорядоченных биологических структур. В кн.: Функциональная морфология клеток. И.И.Л., 68, 1963
382. ШИЛКЕВИЧ Л.Л., КОПАЕВ Ю.Н., КОТОВСКИЙ Б.Ф., КОРОЛЕВ В.В., КОРОЛЕВ Ю.Н. Активность дегидрогеназ янтарной и молочной кислот в условиях хронической гипоксии. Проблемы космической медицины, Наука, М., 222, 1968
383. ШИК Л.Л. Зависимость между давлением и потреблением кислорода при разной температуре. К регуляции дыхания, кровообращения и газообмена. М., 125, 1948

384. ШКОЛОВОЙ В.В. Роль тканевого дыхания и некоторых ферментов в патогенезе. Вопросы энзимологии, Медицина, 147, 1964
385. ШНЕЙДЕР В. Роль структурных факторов в регуляции обмена. Проблемы цитофизиологии. ЦИ Л., М., 17, 1957
386. ЭНГЕЛЬГАРТ В.А. О круговых химических процессах в клетке. Казанский мед. журнал, 28, 1, 7, 1932
- 386а. ЭНГЕЛЬГАРТ В.А., БАЕВ А.А. Превращение аммиака в связи с дыханием клетки. Биохимия, 1, 1, 113, 1936
387. ЭПШТЕЙН М.М., НИКОНОВА В.А., СПИЛИОТИ З.И. Углеводно-фосфорный обмен в скелетной и сердечной мышце при гипоксии. Сб.: Всесоюз. конф. по мышечной биохимии. АН СССР, Л., 153, 1966
- 387а. ЭПШТЕЙН М.М., НИКОНОВА В.А., СПИЛИОТИ З.И. Влияние аскорбиновой кислоты на окислительное фосфорилирование в митохондриях головного мозга и печени кроликов. Укр. биох. журн., 40, 2, 131, 1968
388. ЭТИНГФ Р.Н., НАТОЧИН Ю.В., ШУКОЛОВ С.А. Сравнительная характеристика митохондрий клеток коркового и мозгового слоев почек. Вопр. мед. химии, 12, 4, 387, 1966
389. ЯКОБСОН Г.С., ПАНОВ А.В. Влияние гормонов коры надпочечников на окислительное фосфорилирование митохондрий печени адреналэктомизированных крыс. Изв. АН СССР. Сер.биол., № 1, 26, 1971
390. ЯКОВЛЕВ Н.Н. Анаэробное и дыхательное фосфорилирование при мышечной деятельности, их соотношение и регуляция. Сб.: Фосфорилирование и функция. И. ЭМ., М-Л., 243, 1960
- 390а. ЯКОВЛЕВА В.И., ГУЗНИЦКИЙ Л.С. Влияние нагрева на каталитические и аллосторические свойства глутаматдегидрогеназы печени быка. Докл. АН СССР, 190, № 1, 231, 1970
391. ЯСТРЕБОВ А.П. Исследования напряжения кислорода и потребление его в костном мозгу при повышенной регенерации крови. Сб.: Полярнографическое определение кислорода в биологических объектах. Киев, 134, 1972
- 391а. ЯСТРЕБОВ А.П. К вопросу о механизме действия кобальта на эритропоэз. Автореферат канд. дисс., Свердловск, 1965
- 391б. ЯСТРЕБОВ А.П. Исследование напряжения кислорода в кроветворной ткани при гипоксии. В сб.: Вопросы патофизиологии регенерации крови. Свердловск, 52, 1968
- 391в. ЯСТРЕБОВ А.П. Динамика окислительных процессов в костном мозгу при экспериментальном изменении эритропоэза. В сб.: Экспериментальные исследования механизмов гемопоэза. Свердловск, 13, 1971
392. ЯЦЕНКО Е.А. Некоторые показатели ^{липидного} обмена сыворотки крови и печени при состояниях, связанных с усиленной регенерацией эритроцитов. В сб.: Экспериментальные исследования механизмов эритропоэза, Свердловск, 57, 1971

293. D'ADAMO A.F. and HAFT D.E. An Alternative Pathway of α -Keto-glutarate Catabolism in the Isolated, Perfused Rat Liver
J. Biol. chem., 240, 2, 613, 1965
294. ADELSTEIN S.S., VALLEE B.L. Line in beef liver glutamic dehydrogenase
J. Biol. chem., 233, 589, 1958
295. ALLMANN D.W., GALZIGNA L., Me CAMAN R.E., GREEN D.E. Membrane systems of the mitochondria. IV. The localization of the fatty acid oxidizing system
Arch. Biochem. a. Biophys., 117, 413, 1966
296. ALLMANN D.W., BACHMANN E., ORME-JOHNSON N., TAN W.C., GREEN D.E. Membrane systems of mitochondria VI. Membranes of liver mitochondria
Arch. Biochem. and Biophys., 125, 3, 981, 1968
297. ASAMI K., JUTTI K., ERNST L. Possible regulatory function of mitochondrial ATP-ase inhibitor in respiratory chainlinked energy transfer
Bioch. et biophys. acta, 205, Nr.2, 307, 1970
298. AWAPARA J., LANDUA A.I., FUERST R., SEALE B. Free γ -amino-butiric acid in Brain
J. Biol. chem., 187, 35, 1950
299. BACCAREN I.A., BONTING I.M. Studies on $(\text{Na}^+ - \text{K}^+)$ -activated ATP-ase XX. Properties of $(\text{Na}^+ - \text{K}^+)$ -activated ATP-ase in rat liver
Bioch. et Biophys. acta, 150, 3, 460, 1968
300. BAGINSKY M.L., HATEFI Y. Reconstruction of succinate-coenzyme Q reductase (complex II) and succinate oxidase activities by a highly purified, reactivated succinate dehydrogenase
J. Biol.chem., 244, Nr. 12, 5313, 1969
301. BAZEMORE A., ELLIOT K.A., FLOREY E. Factor I and γ -aminobutyric acid
Nature, 176, 1052, 1956

402. BARRON A.G., BARRON E.S. Mechanism of cobalt Polycythemia
Effect of ascorbinic acid
Proc.Soc.exp.biol.Med., v.35, 407, 1937
403. BELLAMY D., BARTLEY W. THE effect of the incubation conditions
on the respiration of mitochondria
Bioch. J., 76, 1, 78, 1960
404. BELLAMY D. The Endogenous Citric Acid-Cycle intermediates and
Amino Acids of Mitochondria
Bioch. J., 82, 1, 218, 1961
405. BING R.J., SIEGEL A., GILBERT M. Metabolism of the human heart
II. Studies of fat, Ketone and amino acid metabolism
Am. J. Med. Sci., 16, 504, 1954
406. BONNER W.D. Succinic dehydrogenase
Methods Enzymology, 1, 722, 1955
407. BORST P., SLATER E.C., Need for inorganic phosphate in
oxidations stimulated Dinitrophenol
Nature, 184, 1396, 1959
408. BORST P., SLATER E.C. The oxidation of glutamate by rat-heart
sarcosomes
Biochim. et Biophys. Acta, 41, 170, 1960
409. BORST P. The Pathway of glutamate oxidation by mitochondria
isolated from different tissues
Biochim. et Biophys. Acta, 57, 256, 1962
410. BRDICKA D., PETTE D., BRUNNER G., MILLER F. Kompartimentierte
Verteilung von Enzymen in Rattenlebermitochondrien
Europ. J. Biochem., 5, Nr. 2, 294, 1968
411. BRODY T.M., BRAIN J.A. A Mitochondrial praeparation from
mammalian brain
J. Biol. Chem., 195, 685, 1952

412. BRODIC A.F. DPNH-cytochrom C reductase
Methods in Enzymology, N.Y.Acad.Sci., 2, 693, 1955
413. BRYLA J., KANIUGA Z., FRANCOWIAK B. On the nature of endogenous substrate in rat-liver mitochondria
Bioch. et Biophys. Acta, 143, 2, 285, 1967
414. BUCCIERO H., ORTEN J. Choline and production of polycytemia by cobalt in the rat
Am. J. Physiol., 154, 3, 513, 1948
415. BULLOUGH W.S., LAURENCE E.B. Energy relations of Mitotic Activity in mouse hair bulbs
Nature, 178, 4527, 266, 1956
416. BURK D., SHADA A., HESSELBACH M., FISCHER C. Cobalt inhibition of tissue respiration, glycolysis and growth
Federation Proc., 5, 126, 1946
417. BURLINGTON R.F., WHITTEN BERTWELL K., SIDEL CAROL M., POSIVIATA M.A., SALKOVITZ IRVING A. Effect of hypoxia on glucolysis in perfused hearts from rats and ground squirrels (Citellus lateralis)
Comp. Biochem. and Physiol., 35, Nr. 2, 403, 1970
418. CHANCE B., WILLIAMS G.R. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. I-V.
J. Biol.chem., 217, 1, 383, 1955
419. CHANCE B. Stoichiometric Relationships and Phosphorylation Mechanism in the Respiratory chain of mitochondria
Proc. Intern. Symp. on Enzyme chemistry Tokyo and Kyoto, 295, 1957
420. B.CHANCE, WILLIAMS G.R. The respiratory chain in oxydative phosphorylation
Adv. in Enzymology, 17, 65, 1956

421. CHANCE B., BALTSCHESKY M. Spectroscopic effects of adenosine diphosphate upon the respiratory pigments of rat heart muscle sarcosomes
Bioch. J., 68, 2, 283, 1958
422. CHANCE B., HOLLUNGER G. Energy-linked reduction of mitochondrial pyridine nucleotide
Nature, 185, 665, 1960
423. CHANCE B., HOLLUNGER G. The interaction of energy and electron transfer reactions in mitochondria. I. General properties and nature of the products of succinate linked reduction of pyridine nucleotide
J. Biol. Chem., 236, 1534, 1961
424. CHANCE B., HOLLUNGER G. The interaction of energy and electron transfer reactions in mitochondria. III. Substrate requirements for pyridine nucleotide reduction in mitochondria
J. Biol. chem., 236, 5, 1555, 1961a
425. CHANCE B., HAGIHARA B. Activation and inhibition of succinate oxidation following adenosine diphosphate supplements to pigeon heart mitochondria
J. Biol. chem., 237, 11, 35 1962
426. CHANCE B. The energy-linked reaction of calcium with mitochondria
J. Biol. chem., 240, 6, 2729, 1965
427. CHANGEUX J.P. Allosteric interaction on biosynthetic L-tryptophan deaminase from E. Coli K-12
Cold. Spring Harbor Symp. Quantbiol., 28, 497, 1963
428. CHAPPEL J.B. Integrated oxidations in isolated mitochondria. Biological structure and function
Simp. biol. Struct. Funct., 4-2, p-71 New York: Acad. press inc. 1961
429. CHAPPEL I.B., HAARHOFF N.K. The uptake of cations by mitochondrial

3 rd., F.E.B.S. Meeting abstracts, Warsaw, 110, 1966

430. CHRISTIL G.S., JADEN J.D., Intracellular distribution of enzymes
Proc. Roy. Soc., London, ser B., 141, 420, 1953
431. CHURCHICH J.E. The rotational relaxation time of aspartate aminotransferase
Bioch. et Biophys. Acta, 147, 3, 511, 1967
432. CIDRANGOLO F. Acide glutamique. Biochemie et applications therapeutiques
Ann. pharmac. franc. 17, 5, 368, 1959
433. CLARK R., CHINN H., ELLIS J., PAWEL N., CRISCUDO D.
Tissue respiratory studies during altitude and cold exposure
Am. J. Physiol., 177, 2, 207, 1954
434. CLELAND K.W., SLATER E.C. Respiratory granules of heart muscle
Bioch. J. 53, 4, 547, 1953
435. CLERICI E., GVIDOTTI G., ROZZONO E. Oxidative phosphorylation and amino acids incorporation into protein in regenerating rat-liver
Proc. Soc. exptl. Biol. and Med. 105, 2, 377, 1960
436. Mc CLURE W.R., LARDY H.A. Rat liver pyruvate carboxylase IV. Factors affecting the regulation in vivo
J. Biol. Chem., V.246, Nr. 11, 3591, 1971
437. COHEN G.M., PATTE J.C. Some aspects of the regulation of amino acid biosynthesis in a branched pathway
Cold. Spreng. Harbor symp. Quant. biol., 28, 513, 1963
438. COLMAN R.F., FRIEDEN C. On the role of amino groups in the structure and function of glutamate dehydrogenase. II. Effect of acetylation on molecular properties
J. Biol. chem., 241, 3661, 1966

439. COLMAN R.E., FRIEDEN C. Compararive interaction between the GTP binding sites of glutamate dehydrogenase
Bioch. et biophys. res. Communs, 22, 100, 1966a
440. COOPER C. DEVLIN T.M., LEHNINGER A.L. Oxidative phosphorylation in an zyme fraction from mitochondrial extracts
Biochem. et Biophys. acta, 18, 1, 159, 1955
441. COOPER C., LEHNINGER A.L. Oxidative phosphorylation by an Enzyme Complex from Extracts of Mitochondria
J. Biol. chem., 1, 489, 1956
442. COOPER C., LEHNINGER A.L. Oxidative phosphorylation by an enzyme complex from extracts of Mitochondria
J. Biol. chem., 219, 1, 519, 1956a
443. COOPER C., LEHNINGER A.L. Oxidative phosphorylation by in enzyme complex from extracts of mitochondria
J. Biol. Chem., 224, 561, 1957
444. COOPER C. The Stimulation of Adenase Triphosphatase in Submitochondrial Particles by Sulfhydryl Reagents
J.Biol. chem., 235, 1815, 1960
445. CORMAN L., KAPLAN N.O. The influence of antibody on the interaction between nucleotides and glutamic dehydrogenases
Biochemistry, 4, 2175, 1965
446. CORVIN Z.M., SCHWARZ K. An effect of vitamin B on the regulation of succinate oxidation in the liver mitochondia
J. Biol. chem., 234, 191, 1959
447. COSTA LIDIA E., TAQUINIA.C. Effect of chronic hypoxia on mioglobin, cytochromes and ubiquinom levels in the rat
Acta physiol. latinoamer., 20, Nr. 2, 103, 1970
448. CORSO F., VESCOVI G. Studi sulle modificazioni midollari indotte della somministrazione prolungata di un sale di cobalto, nel ratto albino
Haematologica, 44, 12, 1959

449. CRISTEA E., MICHAILESCU I. Oxaloacetate levels during the inhibition-activation cycles in rat liver mitochondria
Rev. roum. biochim., V. 7, Nr. 3, 195, 1970
450. DALHAMN T. The effect of cobalt on blood pressure, respiration, and mortality and the use of dimercaprol (BAL) as antidote
Acta pharm. et toxicol., V. 9, 559, 1953
451. DANIEL M., DINGLE J., WEBB M., HEATH J. The biological action of cobalt and other metals. 1. The effect of cobalt on the Morphology and Metabolism of rat fibroblasts in vitro
Brit. J. of exp. Phathology, XLIV, 2, 163, 1963
452. DAVIDSON M.B., AOKI VINCENT S. Fasting glucosae homeostasis in rats after chronic exposure to hypoxia
Am. J. physiol., 219, Nr. 2, 378, 1970
453. DAVIS J.E. The depretion of experimental polycythemia by various substances in dogs, rabbits and man
J. Pharmacol. and exp. therap., V.73, Nr.2, 162, 1941
454. DAVISE JACK, GIBSON DAVID M. Regulation of the metabolism rabbit liver mitochondria by long chain fatty acids and other uncouples of oxidative phosphorylation
J. Biol. chem., 244, Nr. 1, 161, 1969
455. DEVIS E. JACK On the nature of malonateinsensitive oxidation of pyruvate and glutamate by heart sarcosomes
Bioch. et Biophys. acta, 162, 1, 1, 1968
456. DINGLE J., HEARTH J., WEBB M., DANIEL M. The biological action of cobalt and other metals. II. The mechanism of the respiratory inhibition produced by cobalt in mammalian tissues
Biochim. et Biophys. acta, 65, 34, 1962
457. DORRANCE S., THORN G., CLINTON M., ENDMONDS H., FARBER S. Effect of Cobalt on work performance under conditions anoxia
Am. J. Physiol., 139, 3, 398, 1943

458. DUCKWORTH M.M. Tissue changes accompanying acclimatisation to low atmospheric oxygen in the rat
J. physiol., 156, 603, 1961
459. DUPOURQUE D., KUN E. Malate dehydrogenases of ox kidney. 1. Isolation and properties of the mitochondrial enzyme
Europ.J.Biochem., 6, 1, 151, 1968
460. DUPOURQUE D., KUN E. Malate dehydrogenases of ox Kidney 2. Two substrate Kinetic and inhibition analyses
Europ. J. Biochem., 7, Nr.2, 247, 1969
461. DURAND Roger, YOUNES ANTONINE, GAUTHERON D. Interaction de l'oxydation du pyruvate et du glutamate au niveau des mitochondries de couer de porc
C.r. Acad. Sci., 2268, 2, 420, 1969
462. EKHOLM R., KERSTELL J., OLSSON R.R., SVANBORG A. Morphologic and biochemical studies of dog heart mitochondria after short periods ischemia
Amer. J. Cardiol., 22, 3, 312, 1968
463. Mc.ELROY E.A., WILLIAMS C.R. Rate parameters of the tricarboxylic acid cycle
Arch. Biochem. and Biophys., 126, Nr. 2, 492, 1968
464. ENGEL P.C., DALZIEL K. Kinetic studies of glutamate dehydrogenase. The reductive amination of 2-oxoglutarate
Bioch. J., 118, Nr.3, 409-, 1970
465. ESTRADA-O.S., MONTAL M., CEBIS H., CARABEZ A. Energy-dependent control of the latency of mitochondrial enzymes
Europ. J. biochem., 12, Nr. 2, 227, 1970
466. ESTABROOK R.W. Mitochondrial respiratory control and the polarographic measurement of ADP:O ratios
Methods in Enzymology, 10, 41, 1967

467. FAHIEN L.A., STRMECKI M. Studies of gluconeogenetic mitochondrial enzymes. IV. The conversion of oxaloacetate to fumarate by bovine liver mitochondrial malate dehydrogenase and fumarase
Arch. Biochem. and Biophys., 130, 1, 2, 278, 1969
468. FAHIEN L.A., STRMECKI M. Studies of gluconeogenic mitochondrial enzymes. III. The conversion of α -ketoglutarate to glutamate by bovine liver mitochondrial glutamate dehydrogenase and glutamate-oxalacetate-transaminase
Arch. Biochem. and Biophys., 130 Nr. 1-2, 468, 1969a
469. FAHIEN L.A., STRMECKI M. Studies of gluconeogenic mitochondrial enzymes. II. The conversion of glutamate to α -ketoglutarate by bovine liver mitochondrial glutamate dehydrogenase and glutamate-oxalacetate transaminase
Arch. Biochem. and Biophys., 130, Nr. 1-2, 456, 1969b
470. FAUST R.J., VANDEMACK P.J., Phosphorilation coupled to NADH oxidation with fumarate in streptococcus faecalis JOCJ
Arch. biochem. et biophys., 137, 2, 392, 1970
471. FEINEN F.J. Die Wirkung von Cystochrom C bei der Narkose und verschiedenen Sauerstoff-mangelzuständen
Dtsch. med. Wochenschr. 80, 4, 146, 1955
472. FELLIS N., MARTINEZ-CARRION M. The molecular weight and subunits of the isozymes of glutamic aspartic transaminase
Biochem. et biophys. res., Commun., 40, Nr. 4, 932, 1970
473. FISCHBEIN W.N., BESSMAN S.P., Hydroxybutirate in mammalian brain. Reversible oxidation by lactic dehydrogenase
J. Biol. chem., 239, 1, 357, 1964
474. FLOREY E., FLOREY E. Studies distribution of factor I in mammalian brain
J. physiol., 144, 220, 1958

475. FONNUM F. The distribution of glutamate decarboxylase and aspartate transaminase in subcellular fractions of rat and guinea-pig brain
Bioch. J., 106, 2, 401, 1968
476. FREEDMAN R.B., RADDA G.K. Chemical modification of glutamate dehydrogenase by 2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid
Biochem. J., 114, Nr. 3, 611, 1969
477. FRENKEL N. Metabolism and Physiological Significance of lipids
London-N.Y., 455, 1964
478. FREUDENBERG H., HALBREICH A., MAGER J. On the mechanism of inhibition of protein synthesis caused by intracellular ATP depletion and its relation to the fluoride induced inhibition
Isr. J. Chem., 8, 131, 1970
479. FREUNDLICH M., UMBARGER H.E. Effects of analogues of treonine and of isolenicine on the properties of treonine deaminase
Cold.Spring Harbor Symp.Quant. biol., 28, 505, 1963
480. FRIEDEN C. Glutamic dehydrogenase V. The relation of enzymes structure to the catalytic function
J.Biol. Chem., 238, 10, 3286, 1963
481. FRIKSEN L., FRIKSEN H., ACVALSEN S. The effect of cobalt ion on the biosynthesis of hemoglobin by rat reticulotod in vitro
Acta physiol.Scand. 3, 337, 1961
482. FROST D., SPITZER F., ELVENJEM C., HART E. Some effects of cobalt and liver substance on blood Building in a dogs
Am. J. Physiol., v.134, Nr.4, 746, 1941
483. FUHRMAN G.T., FUHRMAN F.A., FIELD T. Metabolism of rat heart slices with special reference to effects of temperature and anoxia
Am. J. Physiol., 163, 3, 642, 1950

484. FUHRMAN G.J., FUHRMAN F.A., FIELD J. Metabolism of rat heart slices with special reference to effects of temperature and anoxia
Am. J. Physiol., 163, 3, 642, 1950
485. GALLAGER C.H. The mechanism of action of hydrocortisone on mitochondrial metabolism
Bioch. J., 74, 1, 38, 1960
486. GERCHART J.C., PARDEE A.B. The effect of the feed back inhibitor CTP, on subunits interactions aspartate transcarbamylases
Cold. Spring Hard. Symp. Quant. biol., 28, 491, 1963
487. GERCHART J.C., PARDEE A.B. Aspartate transcarbamylase, on enzyme designed from feed back inhibition
Feder. Prociding, 23, Nr.3, 727, 1964
488. GERDING R.K., WOLFE R.G. Malic dehydrogenase VIII. Large scale purification and properties of supernatant pig heart enzyme
J. Biol. chem., 244, 5, 1164, 1969
489. GEVER J., KLINGMÜLLER V. Untersuchungen über den Stoffwechsels der 1(+) Glutaminsäure. Mitteilung. Wirkungen von 1(+) Glutaminsäuregaben auf den Kohlenhydratstoffwechsel
Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem., 301, Nr. 4-6, 269, 1955
490. GLANSMAN W.H., ERIXON J.Z.E. Observations on the Subcellular organisation on hepatic parenchymal cell. II Evolution of reversible alterations induced by hypoxia
Lab. Invest., 15, 762, 1966
491. GLICK J., BRONK J. The effect of exercise on the rate of oxygen uptake by rat-liver mitochondriae
Bioch. et biophys. Acta, 82, 1, 165, 1964

492. GLICK J.L. Effects of exercise on oxidative activities in rat liver Mitochondria
Am. J. Physiol., 210, 6, 1215, 1966
493. GLOCK E., JENSEN C.O. The colorimetric determination of Plant Succinic dehydrogenase
J. Biol. Chem., v.201, Nr. 1, 271, 1953
494. GODINOT C., VIAT C., FONT B., GAUTHIERON D. Regulation de l'activite-respiratoire des mitochondries de coeur de porc. et transformations des nucleotides adeniliques et du phosphate
Europ. J. Biochem., 8, 3, 385, 1969
495. GOLD M., SPITZER J.J., Metabolism of free fatty acids by myocardial and kidney
Am. J. Physiol., 206, 1, 153, 1964
496. GOLDSTEIN H. L-glutavine as a therapeutic acid in mentally afflicted children
Arch. Pediatric., 75, 3, 89, 1958
497. GRAFFI A., PISAREWSKY A., SYDON G. Die oxydative Phosphorylierung und Atmung in Mitochondrien aus normalen und carcinomen-geschädigten Lebergeweben der Ratte sowie aus Leber-Carcinom
Acta biol. et med. germ. 5, 3, 307, 1960
498. GRANZ W., SCHULZ F. Klinischer Beitrag zur Frage der parenteralen Differentialtherapie sekundärer Anämien mit Komplex-gebundenem Kobalt und Ferrieisen
Ztschr. inn. Med., 4, 149, 1956
499. GREEN D.E., LOOMIS W.F., AUERBACH V.H. Studies of the cyclophorase system. 1. The complete oxidation of pyruvic acid to carbon dioxide and water
J. Biol. chem., 172, 389, 1948

500. GREEN D. The cyclophorase complex of enzymes
Biol. Rev., 26, 410, 1951
501. GREEN D.E., GOLMAN D.S., MII S., BEINERT H. The acetoacetate activation and cleavage enzymesystem
J. Biol. chem., 202, 1, 137, 1953
502. GREEN D., CRANE F. Structure of the mitochondrial electron transport system
Proceed. of Intern. symp. on enzyme chemistry. Tokyo and Kyoto, 275, 1957
503. GREEN D.E., WHARTON D.C. Stoichiometry of the fixed oxidation-reduction components of the electron transfer chain of beef heart mitochondria
Biochem. Z., 338, 335, 1963
504. GREEN D.E., TZAGOLOFF A. The mitochondrial electron transfer chain
Arch. Biochem. a. Biophys., 116, 293, 1966
505. GREEN D.E., HARRIS R.A. Conformational basis of energy transduction in mitochondria
FEBS letters, 5 Nr.4, 241, 1969
506. GREENSPAN M.D., RURVIS I.L. The energy-linked incorporation of diphosphopyridine nucleotide into rat liver mitochondria. Requirements for incorporation
J. Biol. Chem., 243, 11, 2921, 1968
507. GREIF S., WENNING F. Kobalt in der Blutbildung und Anemiebehandlung
Wiener klinische Wochenschrift, 35/36, 657, 1951
508. GRISOLIA S., GRADY H., FERNANDER M., TUCKER D. Triose phosphate and glutamic acid dehydrogenase inactivation at physiological conditions: a possible basis for protein turn-over
Med. exptl., 4, 329, 1961

509. GRÜNDIG E., BRETSCHNEIDER R. Über die Bedeutung der Glutaminsäure für das Zentral-Nervensystem
N. Österreichische Zeitschr, Kinderh., 4, 2-4, 370, 1959
510. GUDBJARNASON S., BRAASH W., COWAN C., BING R.J. Metabolism of infacted heart muscle during tissue repair
Amer. J. Cardiol., 22, 3, 360, 1968
511. GURUPRASAND S., SILVERSTEIN EMANUEL. Modulation of heart muscle mitochondrial malate dehydrogenase activity. II. P-mercuribenzoate activation, model of a possible allosteric control mechanism for substrate homeostasis
Biochemistry, 9, Nr. 2, 283, 1970
512. GUTFREUND H., EBNER K., MENDIOLA L. Transamination and the Control of Mitochondrial pathway
Nature, 192, 820, 1961
513. HAAN E.J., TAGER J.M., SLATER E.C. Pathway of glutamate oxidation in rat-liver mitochondria
Bioch. et biophys. acta, 89, 375, 1964
514. HAAS D.W. Phosphorylation coupled to the oxidation of NADH by fumarate in digitonin fragments of beef-heart mitochondria
Biochem. et biophys. acta, 92, 3, 433, 1964
515. HAAS D.W., GRAY R.R. Energy-linked reactions in digitonin particles from beef-heart mitochondria
Biochim. et biophys. acta, 172, Nr. 3, 571, 1969
516. HACKENBROCK C.R. Chemical and physical fixation of isolated mitochondria in low-energy and highenergy states
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 61, 2, 598, 1968
517. HAGIHARA B. Techniques for the application of polarography to mitochondrial respiration
Bioch. et Biophys. acta, 46, 1, 134, 1961
518. HALL D.O., PALMER J.M., Mitochondrial research today
Nature, 221, Nr.5182, 717, 1969

519. HASEGAWA Клинические и экспериментальные данные о действии кобальта при различных анемиях
J. Japan Soc. intern.-med. 46, 9, 1000, 1957
Р. ис. биологии, № 6, рф. 26652
520. HASLAM B.J., KREBS H.A. The metabolism of glutamate in homogenates and slices of brain cortex
Bioch. J. 88, 566, 1963
521. HATEFI Y., HAAVIK A.G., IURTSCHUK P.I., Studies on the electron transport system XXX DPNH-cytochrome C reductase
Biochim. et Biophys. Acta, 52, 106, 1961
522. HATEFI Y., STEMPER K.E., HANSTEIN W.G. Inhibitors and activators of the mitochondrial reduced diphosphopyridine nucleotide dehydrogenase
J. Biol. chem., 244, Nr.9, 2358, 1969
523. HAULICA A., ABABEI Modificari ale metabolismului intermediar in hipoxia cronica experimentală
Fisiol. norm. Si. Patol., 17, Nr.1, 77, 1971
524. HELLERMAN L., SCHELLENBERG K.A., REISS O.K. L-glutamic acid dehydrogenase II. Role of enzyme sulfhydryl groups
J. Biol. chem., 233, 1468, 1958
525. HEYDE ELIZABETH, AINSWORTH S.A. A reappraisal of some structural features of bovine heart malate dehydrogenase
Bioch. J., 109, 4, 663, 1968v
526. HILL I.R. The oxygen consumption of new-born and adult mammals. Its dependence on the oxygen tension in the inspired air and on the environmental temperature
J. Physiol., 149, 346, 1959
527. HINWISH W.A., PETERSEN I.M. Ingested sodium glutamate and plasma levels of glutamic acid
J. Appl. Physiol., 7, 2, 196, 1954

528. HOGEBOMM G.H., SCHNEIDER W.C., PALADE G.E. Mitochondria cytochemical studies of mamalian tissues. 1. Isolation et intact from Rat-liver; Some biochemical properties of mitochondria and submicroscopic particulate Material
J. Biol. chem., 172, 619, 1948
529. HOGEBOMM G.H., SCHNEIDER W.C. Intracellular distribution of enzymes VIII. Distribution of diphosphopyridine-nucleotide-cytochrome C Reductase in normal mouse liver and mouse hepatome
J. Nat. Cancer Inst., 10, 983, 1950
530. HOGEBOMM G.H., SCHNEIDER W.C. Intracellular distribution of enzymes XI Glutamic dehydrogenase
J. Biol. Chem., 204, 233, 1953
531. HOBBERMAN H.D., PROSKY L. Evidence of reduction of fumarate to succinate in perfused rat liver under conditions of reduced O tension
Bioch. et biophys. acta 148, 2, 392, 1967
532. HOLLOSZY I.O., OSCAI L.B., DON I.J., MOLE P.A. Mitochondrial citric acid cycle and related enzymes: adaptive response to exercise
Biochim. and Biophys. Res. Commun, 40, Nr.6, 1368, 1970
533. HOWARD M., JRTOTH LOUIS A. Effect of spontaneous ischemia on aerobic metabolism of cortical and medullary homogenates of dog kidney
Proc. Soc. exp. biol. and med. 135, Nr. 3, 589, 1970
534. HUANG C.Y., FRIEDEN C. Rates of GDP-induced and GTP-induced depolymerisation of glutamate dehydrogenase: a possible factor in metabolic regulation.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 64, Nr. 1, 338, 1969

535. HULSMAN W.C., SLATER E.C. Relationship between the hydrolysis of adenosine triphosphate and oxidative phosphorylation
Nature, 180, Nr. 4582, 372, 1957
536. JACOBSON L., MARKS E., GASTON E. Effect of BAL on Cobalt induced Polycythemia in Rat
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 69, 1, 84, 1948
537. JAMBOR B. Reduction of Tatrastoli
Nature, 173, 4408, 774, 1954
538. Le JOHN H.B., SUSAN G., JACKSON S.G., CLASSEN G.R., SAWULA R.V. Regulation of mitochondrial glutamic dehydrogenase by divalent metals, nucleotides and α -ketoglutarate correlations between the molecular and kinetic mechanisms, and the physiological implications
J. Biol.chem., 244, Nr. 19, 5346, 1969
539. JONES E.A., GUTFREUND H. Clutamate synthesis and the control reactions linked with the Nicotinamide-adenine dinucleotide coenzymes in Mitochondria
Bioch. J., 84, Nr. 1, 46, 1962
540. JONES E.A., GUTFREUND H. Oxidation of Succinate and the Control of the Citric Acid Cycle in the Mitochondria of Guinea-pig liver, Mammary gland and Kidney
Bioch. J., 87, 639, 1963
541. JONES E.A., GUTFREUND H. The kinetic behavior of enzymes in organized system: the effective concentrations of succinate in mitochondria
Bioch. J., 91, 10, 1964
542. KATUNUMA NOBUCHNIKO, OCADA MUTSUGA. Respiratory inhibition of T.CA cycle and control of glutamic acid synthesis by ammonia in rat liver mitochondria
Bioch. and Biophys. res. commun., 12, 3, 252, 1963

543. KFOURY G.A., REINHOLD J.G. Enzyme activities in tissue of zinc-deficient rats
J. Nutr., 95, Nr. 1, 102-110, 1968
544. Mc KHANN, TOWER D.B. Gamma-aminobutyric Acid: A Substrate for oxidative Metabolism of Cerebral Cortex
Am. J. Physiol., 196, 1, 36, 1959
545. KEAN E.L., ADAMS P.H., WINTERS R.W., DAVIS R.E. Energy metabolism of the renal medulla
Bioch. et Biophys. Acta, 54, 3, 474, 1961
546. KEILIN D., HARFREE E.F. Activity of the Succinic dehydrogenase-cytochrome system in different tissue preparations
Bioch. J., 44, 205, 1945
547. KENNEDY E.P., LEHNINGER A.L. Intracellular structures and the fatty acid oxidase of rat liver
J. Biol. chem., 172, 847, 1948
548. KENNEY W.C., WALKER W.H., KEARNEY E.B., ZESZOTEK E., SINGER T.P. Amino Acid sequence at the active center of succinate dehydrogenase
Bioch. et biophys. res. commun., 41, Nr.2, 488, 1970
549. KING T.E. Reconstruction of Respiratory chain Enzymes Systems
J. Biol. chem., 288, 12, 4032, 1963
550. KING T.E., HOWARD R. Preparations and Properties of Soluble NADH Dehydrogenases from cardiac Muscle
Methods in Enzymology, N.Y.Acad. Sci., v.10, 275, 1967
551. KING K.S., FRIEDEN C. Purification and physical properties of glutamate dehydrogenase from rat liver
J., Biol. chem., 245, Nr. 17, 4391, 1970
552. KIMURA N., MACAMURA N. Enzymological studies miocardial metabolism
Circulat. J. 20, 6, 360, 1956

553. KLINGENBERG M. Morphological and functional aspects of pyridine nucleotide reactions in mitochondria
In: Energy-linked functions of mitochondria, Ed. by B. Chance, Acad. Press., N.Y.-London, 121, 1963
554. KLOTSCH C. Zur Frage der erhöhten Acetylcholinbildung im Gehirn nach lang-dauernden Glutaminsäure tutterung
Arch. exper. Path. u. Pharmacol., 227, 8, 409, 1956
555. KOHL H. Die therapeutische Bedeutung einzelner Aminosäuren
Wiss. Z. Karl-Marx-Univ., Leipzig, Math-Naturwiss. Reihe, 4, 5, 451, 1954-1955
556. KÖNIG T., NICHOLLS D.G., GARLAND P.B., . The inhibition of pyruvate and Ls(+)-isocitrate oxidation by succinate oxidation in rat liver mitochondria
Bioch. J., 114, Nr.3, 589, 1969
557. Von KORFF. Metabolic characteristics isolated rabbit heart mitochondria
J. Biol. chem., 240, 3, 1351, 1965
558. Von KORFF. Changes in metabolic control sites of Rabbit Heart mitochondria
Nature, 214, 5083, 23, 1967
559. KOSHLAND D.E. Active site and enzyme action
Adv. in Enzymology, 22, 45, 1960
560. KOSHLAND D.E. Conformation changes at the active site during enzyme action
Feder. Proc., 23, 719, 1964
561. KRAAYENHOF R., Van DAM K. Interaction between uncouplers and substrates in rat-liver mitochondria
Biochem. et Biophys. acta, 172, 2, 189, 1969

562. KREBS H.A., KOCHEN P.P. *Bioch. J.*, 33, 1893, 1939
Цитируется по P.Borst, 1962
563. KREBS H.A., EGGLESTON L.V., HEMS R. Distribution of Glutamine and Glutamic Acid in Animal Tissues
Bioch. J., 44, 159, 1949
564. KREBS H.A. Manometric Determination of l-Aspartic Acid and l-Asparagine
Biochem. J., 47, 605, 1950
565. KREBS H.A., BELLAMY D. The interconversion of glutamic acid and aspartic acid in respiring tissues
Bioch. J., 75, 523, 1960
566. KREBS H.A., EGGLESTON L.V., D'ALESSANDRO A. The effect of succinate and amital on the reduction of acetoacetate in animal tissues
Biochem. J., 79, 3, 537, 1961
567. KRETSCHMER R., KRETSCHMER A. Zur intravenösen Kobalttherapie
Dtsch. Gesund. Wes. 8, 1456, 1953
568. KUN E., AYLING J.E., BALTIMORE B.G. Studies on specific enzyme inhibitors. VIII. Enzyme-regulatory mechanisms of the entry of glutamic acid into metabolic pathways in kidney tissue
J. Biol. chem., 239, 9, 2889, 1964
569. KUNE V., WOJTCZAK Z. Oxidation of succinate and malate by rat-heart sarcosomes
III. F.E.B.S. Meeting Abstracts. Acad. Press. Warsaw, 125, 1966
570. KUN ERNEST, KEARNEY EDNA B., WEIDEMANN INGRID, LEE NANCY M. Regulation of mitochondrial metabolism by specific cellular substances. II. The nature of stimulation of glutamate metabolism by a cytoplasmic component
Biochemistry, 8, Nr. 11, 4443, 1969
571. LAMBETH D.O., LARDY H.A., SENIOR A.E., BROOKS J.C. Reassessment of the molecular weight of mitochondrial AT Phase from beef heart
FEBS Letters, v, 17, Nr. 2, 330, 1971

572. LAMBETH D.O., LARDY H.A. Purification and properties of rat-liver-mitochondrial adenosine triphosphatase.
Europ. J. Biochem., v. 22, Nr. 3, 355, 1971, a
573. LANDAU B.R., HASTINGS B.B., NESBETT F.B. Origin of glucose and glycogen carbon formed from C¹⁴-labeled pyruvate by livers of normal and diabetes rats
J. Biol. chem., 274, 2, 525, 1955.
574. LANDRISCINA C., PAPA S., CORATELLI P., MAZZARELLA L., QUAGLIARIELLO E. Enzymatic activities of the matrix and inner membrane of pigeon-liver mitochondria
Biochem. et biophys. acta, 205, Nr. 2, 136, 1970
575. LARDY H.A., WELLMAN H. Oxidative phosphorylations: role of inorganic phosphate and acceptor systems in control of metabolic rates
J. Biol. chem., 195, 1, 215, 1952
576. LARDY H.A., WELLMAN H. The Catalytic effect of 2,4-dinitrophenol on adenosinetriphosphate hydrolysis by cell particles and soluble enzymes
J. Biol. chem., 201, 357, 1953
577. LARDY H.A., ADLER J. Synthesis of succinate from propionate and bicarbonate by soluble enzymes from liver mitochondria
J. Biol. chem., 219, 2, 933, 1956
578. LAUENSTEIN H. Die Erfahrung mit Glutaminsäure in der täglichen Praxis
Med. Klin. 47, 191, 1952
579. LAYNE ENN-IS C., BESSMAN S.P. On the glutamate-stimulated oxidation of dicarboxylic acid through the Krebs-cycle
Sympos. Pyridox. Enzymes, Magoya, Tokyo, 173, 1968
1967,
580. LEHMANN F.G. Glutamat-dehydrogenase aus menschlicher Leber II. Verhalten gegenüber Coenzymanalogen und allosterische Eigenschaften
Klin. Wochenschr., 47, Nr. 19, 1045, 1969
581. LEE SIN HANG. Ultrastructural localization of glutamic oxalacetic transaminase activity, in cardiac muscle fiber and cardiac mitochondrial fraction of the rat
Histochemie, 19, Nr. 2, 99, 1969

582. LEE SIN HANG, TORACK RICHARD M. Electron microscope studies of glutamic oxalacetic transaminase in rat liver cell
J.Cell.Biol., 39, Nr. 3, 716, 1965
583. LEE N.M., WEIDEMAN S., JOHNSON K.L., SKILETTER D.N., KUN E.
The dependence of oxidative phosphorylation and ATP-ase of liver mitochondria on bound Mg^{2+}
Biochem. and Biophys. Res. Commun., 40, Nr.5, 1058, 1970
584. LEMBERG M.R. Cytochrome oxidase
Physiol.Revs, 49, 1, 48, 1969
585. LEMLEY I.M., MENEELY G.R. Effect of anoxia on metabolism of myocardial tissue
Am.J.Physiol., 169, 1, 66, 1952
586. LEVY H., LEVISON V., SCHADE A. The effect of cobalt on the activity of certain enzymes in homogenates of rat tissue
Arch. biochem., 27, 34, 1950
587. LINMAN J.W., BETHELL G.H. Factors controlling erythropoiesis
USA, 1960
588. LILJEROOT B.S. and HALL J.C. Oxidative Phosphorylation in liver Mitochondria from adrenalectomized Rats and the Response to Hormones added in vitro. J.Biol.chem., v.240, Nr.3, 1446, 1965
589. LONDON I., MAGER E., KULEZYK S. Allosteric control of a lactobacillus malate dehydrogenase (decarboxilation) by two glycolytic intermediate products
Biochim. et Biophys. Acta, 212, Nr.3, 512, 1970
590. LOWY R., DARACHE R., TREMOLIERES I. Intervention de la cortisone dans les complexes enzymatiques oxydatifs des mitochondries. I Intervention dans les equilibres enzymeeffectes metaboliques
Compt. Rend. biol., 151, Nr. 4, 682, 1957
591. MADSEN J., ABRAHAM S., CHAIKOFF T.U. The Conversion of glutamate carbon to fatty acid carbon via citrate
J.biol. chem., 239, Nr. 5, 1305, 1964
592. MAGAR M.E. Conformational changes in glutamate dehydrogenase
Biochim. et biophys. acta, 96, 345, 1965
593. MAGNUSSEN I. An influence of oxygen tension on the production of erythrocytes in vitro
Acta pharmac. et toxicol., 5, 153, 1949
594. MAHLER H.P., SARKAR N.K., VERNON L.P., ALBERTY R.A. Studies on Diphosphopyridine nucleotide - cytochrome C reductase
J. Biol. Chem., 199, 585, 1952

595. MELA L., BACALZO L.V., MILLER L.D. Defective oxidative metabolism of rat liver mitochondria in hemorrhagic and endotoxin shock.
Amer. J. Physiol., v. 220, Nr. 2, 571, 1971
596. MALEK P., KOLC I., SKOVODA Z. Vyznam lyfatickeho systemu v transportu enzymu z ischemizovaneko myokardu
Cas. lek. cesk., 109, Nr. 30, 699, 1970
597. MANN KENNETH G., VESTLING C.S. Subunits of rat liver mitochondrial malate dehydrogenase
Biochemistry, 8, Nr. 3, 1105, 1969
598. MARCO R., SEBASTIAN I., SOLS A. Location of the enzymes of the oxalacetate metabolic cross-roads in rat liver mitochondria
Biochem. et Biophys. Res. Commun., 34, 5, 725, 1969
599. MARCUS R., REAVEN G. Glutamic-induced Hyper-glycemia
Proc. Exptl. Biol. and Medicine, 124, Nr. 3, 970, 1967
600. MAYER YASH P., KING TSOO E. Conformational evidence for the non-identity of cytochromes a and a₃ in cytochrome oxidase
Biochem. and Biophys. Res. Commun., 34, 2, 170, 1969
601. MAYERS D.K., SLATER E.C. The enzymatic hydrolysis of adenosine triphosphate by liver mitochondria
J. Biol. chem., 67, 4, 572, 1957
602. MAYERS D.K., SLATER E.C. Hydrolysis of adenosine triphosphate by mitochondrial preparations
Nature, 179, Nr. 4555, 363, 1957, a
603. MEISTER A., KRISHASWANY P.R., VARIA PAMILIANS. Mechanism of glutamic acid activation on glutamine synthesis
Fed. proc., 21, 6, 1013, 1962
604. MICHAL G., NAEGLE S., DANFORTH W.H., BALLARD F.B., BING R.J. Metabolic changes in heart muscle during anoxia
Am. J. Physiol., 197, 6, 1147, 1959
605. MINNAERT K. Endogenous respiration of rat-liver mitochondria
Bioch. et biophys. Acta, 44, 3, 595, 1960
606. MITCHELL P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism
Nature, 191, 144, 1961
607. MITCHELL P., MOYLE T. Chemiosmotic hypothesis of oxidative phosphorylation
Nature, 213, 137, 1967

608. MOON K.E., BRODY T.M. Functional changes in liver mitochondria following in situ anoxia
Am. J. Physiol., 198, 3, 677, 1960
609. MORGAN I., PARKER R. Interrelationships between cobalt and amino-acids in tissue culture
Arch. of biochem. and biophys., 38, 267, 1952
610. MUNKVAD I. Glutamic acid metabolism in schizophrenics with special reference to the arterio-venous deficiency in various organs
Confinia neurol., 18, Nr. 2-4, 239, 1958
611. MURAOKA S., SLATER E.S. The redox states of respiratory-chain components in rat liver mitochondria. I. Effect of aroing substrate concentration and of azide
Bioch. et biophys. acta, 180, 2, 221, 1969
612. NACHNANSON D.A., JOHN H.M. Effect of glutamic acid on the formation of acetylcholine
J. Biol. chem., 150, 485, 1943
613. NELSON B.D., HIGHMAN B., ALLAND P.O. Oxidative phosphorylation during altitude acclimation in Rats
Am. J. Physiol., 213, 6, 1414, 1967
614. NEMETH A.M. Biochemical events underlying the development and adaptive increases in tryptophan pyrrolase activity
Advances in enzyme regulation. Pergamon Press Oxford, v. 7, 57, 1963
615. NEUBERT D., FOSTER G., LEHNINGER A.L. Effect of temperature on uptake and excretion of water by isolated rat-liver mitochondria
Bioch. et Biophys. Acta, 60, 3, 492, 1962
616. NICOLLS D.G., GARLAND P.B. The control of isocitrate oxidation by rat liver mitochondria
Biochem. J., 114, Nr. 2, 215, 1969
617. NISHIKAWARA BRICKER I.G. Relation between glucocorticoid level and hepatic glutamic dehydrogenase activating
Am. J. Physiol., 210, 3, 586, 1966
618. NITSCHCOFF S., SCHUBERT H. Klinische Erfahrungen mit Glutaminsäure
Theor. Genew., 95, 1, 19, 1956
619. OCHOA S. Malic dehydrogenase from pig heart.
Methods in Enzymology, N.Y. Acad. Sci., v. 1, 735, 1955

620. OLSON I.A., ANFINSEN C.B. The crystallization and Characterization of l-glutamic acid dehydrogenase^a
J. Biol. Chem., 67, 197, 1952
621. OLSON I.A., ANFINSEN C.B. Kinetic and equilibrium studies on crystalline l-glutamic acid dehydrogenase
J. Biol. Chem., 202, 2841, 1953
622. OLSON M.S., von KORFF R.W. Changes in endogenous substrates of isolated rabbit heart mitochondria during storage
J. Biol. Chem., 242, 2, 325, 1967
623. OLSON M.S., von KORFF R.W. The effect of depletion of endogenous substrates of the metabolic behavior of isolated rabbit heart mitochondria
J. Biol. Chem., 242, 2, 333, 1967, a
624. ORTEN J.M., BUCCIERO M.C. The effect of cysteine, histidine, and methionine on the production of polycythemia by cobalt
J. Biol. Chem., 176, 2, 961, 1948
625. OZAWA TAKAYUKI. Adenosine diphosphatase in the electron transfer particle
J. Biochem., 65, 2, 317, 1969
626. PALADE G.E. The Fine Structure of Mitochondria,
Anat. res. 114, 427, 1952
627. PAGE M., GODIN C. On the determination of the molecular weight of protein subunits on sephadex G-200 in the presence of detergent Glutamate dehydrogenase
Canad. J. Biochem., 47, Nr. 3, 401, 1969
628. PAPA S., TAGER I., FRANCAVILLA A., QUADRIARIELLO E. NAD(P)-linked oxidoreductions and the nicotinamide nucleotide specificity of glutamate dehydrogenase in rat liver mitochondria
Biochem. et biophys. acta, 172, 1, 20, 1969
629. PAPA S., LOFRUMENTE N.E., PARADIES G., QUADRIARIELLO E. Mechanism of inhibition by uncouplers of succinate oxidation in isolated mitochondria
Biochem. et Biophys. Acta, 180, Nr. 1, 35, 1969
630. PARDEE A.B., Van R. POTTER. Inhibition of succinic dehydrogenase by oxalacetate
J. Biol. chem., 176, 3, 1085, 1948c
631. PETERSEN I.C., STRIPE M.C., HIMWICH W.A. Metabolic effect of l-glutamic acid and of glycine
Amer. J. Physiol., 181, 3, 519, 1955

632. PITTINI A., MOSSINA V. Arch. Pharmacol. Therap., 7:1, 1899
Цитируется по Granz, Schulz, 1956
633. PRASALZ. Effect of hydrolyzed glucose cycloacetoacetate and phenylhydrazine on the ATP-ase activity and respiratory control of rat liver mitochondria
Bull. Acad. polon. sci., v.18, Nr. 9, 517, 1970 . .
634. PREZBINDOWSKI K.S., RUZICKA F.I., SUN F.F., CRANE F.L. Membrane structure: binary membranes of mitochondrial cristal
Exp. Cell. res., 57, Nr. 2-3, 385, 1969
635. POST I. Prevention of Cobalt-induced Polycythemia in rats by Calcium Ethylenic diamine Tetra Acetic Acid
Proc. Soc. Expt. Biol. a. Med. 90, 7, 245, 1955
636. PURPURA D.P., GIRADO M., GRUNDFEST H. Selective blockade of excitatory synapses in the cat brain by γ -aminobutiric acid
Science, 125, 1200, 1957
637. RENDON A., WAKSMAN A. Differential movement of mitochondrial aspartate amino transpherase as a function of the energetical State of the mitochondria
Biochem. and Biophys. Res. Communs, 35, Nr. 3, 324, 1969
638. REYNAFARJE B., GREEN D. Piridine Nucleotide-cytochrome "C" Reductase in Rats exposed to low Oxygen tensidias
Proc. Soc. exper. Biol. and Med., 103, 1, 224, 1960
639. ROBERTS E., FRANKEL S. γ -aminobutiric acid in brain: its formation from glutamic acid
J. Biol. Chem., 187, 55, 1950
640. ROBERTS E., FRANKEL S. Futher studies on free amino acids in normal and neoplastic tissues
Cancer Res., 10, 237, 1950, a
641. ROBERTS E., FRANKEL S. Glutamic acid decarboxylase in brain
J. Biol. Chem., 188, 789, 1951
642. ROBERTS E., FRANKEL S. Futher studies of glutamic acid decarboxylase in brain
J. Biol. Chem., 190, 505, 1951, a
643. ROBERTON A.M. Energy-linked control of oxalacetate formation in a submitochondrial particles model system
3 rd. F.E.B.C. Meeting abstracts. Warsaw, 1966,
144,
644. ROBINSON B.H. The role of the tricarboxylate transporting system in the production of phosphoenolpyruvate by ox liver mitochondria
FEBS Letters, v. 16, Nr. 4, 26, 1971

645. ROBINSON B.H., WILLIAMS G.R. The effect of mitochondrial oxidations of inhibitors on the dicarboxylate anion transporting system
FEBS Letters, 5, Nr. 4, 301, 1969
646. ROCHMAN H., CLARK P.B., LATHE G.H., PARSONS F.M. The effect of temperature and anoxia of rat-kidney slices on their subsequent respiration
Bioch. J., 102, 1, 44, 1967
647. ROCHMAN H., LATHE G.H., LEVELE M.I. The effect of temperature and anoxia of kidney on the subsequent oxidative phosphorylation of mitochondria
Bioch. J., 102, 1, 48, 1967, a
648. ROSEN F., HARDING H.R., MILHOLLAND R.I., NICHOL C.A. Glucocorticoids and Transaminase activity
J. Biol. Chem., 238, 3725, 1963
649. ROSSI C.S., LEHNINGER A.L. Stoichiometric relationships between accumulation of ions by mitochondria and the energy-coupling sites in the respiratory chain
Biochem. J., 126, 2, 338, 689
650. ROSIN A., RACHMILEWITZ M. The effect of anoxia and hypoxia on explanted bone marrow
Blood, 3, 165, 1948
651. SANADI D.R., FLUHARTY A.L. Mechanism of oxidative phosphorylation. VII. The energy-requiring reduction of pyridine nucleotide by succinate and the energy-yielding oxidation of pyridine nucleotide by fumarate
Biochemistry, 2, 3, 523, 1963
652. SANDERS A.P., HALE D.M., MILLER A.T. Some effects of hypoxia on respiratory metabolism and protein synthesis in rat tissues
Am. J. Physiol., 209, 2, 443, 1965a
653. SANVAL B.D. Regulatory mechanisms involving nicotinamide adenine nucleotides as allosteric effectors. I Control characteristics malate dehydrogenase
J. Biol. Chem., 244, 7, 1831, 1969
654. SARKAR N.K. Mechanism of hormone action. The effect of the synthetic corticosteroids on liver RNA, and hepatic ribonuclease and ribonuclease inhibitor activities in rats
FEBS Letters, 4, Nr. 1, 37-41, 1969

655. SCHÄFER G., BALDE P., LAMPRECHT W. Functional status and metabolic changes in Rabbit heart mitochondria during pyruvate oxidation
Nature, 214, 5083, 20, 1967
656. SCHMIDT U., DUBACH U.C. Activity of (Na^+K^+) -stimulated adenosintriphosphatase in the rat nephron
Pflügers Arch., 306, 3, 219, 1969
657. SCHNEIDER W.C. Intracellular distribution of enzymes. 1. The Distribution of succinic dehydrogenase, cytochrome oxydase, adenosintriphosphatase and phosphorus compounds in normal rat Tissues
J. Biol. chem., 165, 585, 1946
658. SCHNEIDER W.C., POTTER V.R. Intracellular distribution of enzymes
J. Biol. chem., 177, 893, 1949
659. SCHOLZ R., THURMAN R.G., WILLIAMSON I.R., CHANCE B., BUCHER T. Flavin and pyridine nucleotide oxidation-reduction changes in perfused rat-liver. I. Anoxia and subcellular localisation of fluorescent flavoproteins
J. Biol. Chem., 244, 9, 2317, 1969
660. SCOLNIK I., TAKACS L., DZENDE E. In vivo oxygen consumption of slices from kidney, brain cortex and liver in hypoxia
Nature, 209, 5020, 85, 1966
661. SEIDMAN L., ENTNER N. Oxidative enzymes and their role in phosphorylation in sarcosomes of adult *A. scaris lubricoides*
J. Biol. Chem., 236, 3, 915, 1961
662. SEKI SHUJI, ODA TAKUZO. Studies on cytochrome oxidase II Ultrastructure of cytochrome oxidase
Arch. Biochem., and Biophys., 138, Nr. 1, 122, 1970
663. SENIOR A.E., BROOKS I.C. Studies on the mitochondrial oligomycin-sensitive ATP-ase. I. An improved method of purification and the behavior of the enzyme in solutions of various depolymerizing agents
Arch. Biochem. and Biophys., 140, Nr. 1, 257, 1970
664. SERBAN M., COTARIU DITA. La biochimie comparee des isoenzymes. VII. Isoenzymes des deshydrogenases maliques des muscles squelettiques des vertebres
Rev. roum. biol. Ser. zool., 15, Nr. 3, 181, 1970

665. SHOWS T.B., RUDDLE F.H. Malate dehydrogenase: evidence for tetrameric structure in *Mus musculus*
Science, 160, Nr. 3834, 1356, 1968
666. SIND H., PILZ I., HERBST M. Studies of glutamate dehydrogenase 5. The x-ray-small-angle investigation of beef liver glutamate dehydrogenase
Europ. J. Biochem., 7, Nr. 4, 517, 1969
667. SJÖSTRAND F.C., RHODIN I. The ultrastructure of the proximal convoluted tubules of the mouse kidney as revealed by high resolution electron microscopy
Exptl. Coll. Res., 4, 426, 1953
668. SJÖSTRAND. Ultrastructure of cells as revealed by the electron microscope
Int. Rev. Cytol., 5, 455, 1956
669. SLATER E.C. Biological Oxidation
Annual Review of Biochemistry, 22, 17, 1953
670. SLATER E.C. Mechanism phosphorylation in the respiratory chain
Nature, 172, 975, 1953, a
671. SLATER E.C. Relationship between the ATP-ase of mitochondria and oxidative phosphorylation
Proc. Intern. Symp. Enzym. Chem., Tokyo and Kyoto, 288, 1957
672. SLATER E.C. The role of oxaloacetate in the control of the metabolism of carbohydrate, fat and protein in mitochondria
Chem. Weekbl., 58, 645, 1962
673. SMITH L. Cytochromes a, a₁, a₂ and a₃.
Method in Enzymology, N.Y. Acad. Sci., 2, 640, 1955
674. STEINERT M. The ultrastructure of mitochondria
Proc. Roy. Soc. London, 13173, 1030, 63, 1969
675. STIEM E., LYLE T. Effect of Cobalt Polycythemia on the Acceleration Tolerance of the Rat
Aerospace Med. 32, 630, 1961
676. STILL I.L., BUELL M.W., GREEN D.E. Studies on the Cyclophorase system VIII. Oxidation of l-glutamate IX Oxidation of l-alanine
Arch. Biochem., 26, 406, 1950
677. STOREY BAYARD T. Rate of ubiquinone oxidation in electron transport particles reduced by succinate
Arch. Biochem. and Biophys., 126, 2, 585, 1968

678. STRECKER H.J. Glutamic dehydrogenase
Arch. Bioch. and Biophys., 46, 128, 1953
679. STRICKLAND E.H., ACKERMAN E., ANTONY A. Effect of hypoxia on heart and liver mitochondrial respiration and phosphorylation
Aerospace Med., 32, 8, 746, 1961
680. STRICKLAND E.H., ACKERMAN F., ANTONY A. Respiration and phosphorylation in liver and heart mitochondria from altitude-exposed rats
J. Appl. physiol., 17, 3, 535, 1962
681. STRICKLAND E., GOUCHER C. Effect of cobalt on mitochondrial respiration
Nature, 198, Nr. 4882, 790, 1963
682. STRICKNEY I.C., van LIERE E.J. Acclimatisation to low oxygen tension
Physiol. Rev., 33, 13, 1953
683. STRUCK I., SIZERL Fr.W., The substrate specificity of glutamic acid dehydrogenase
Arch. Biochem. and Biophys., 86, 260, 1960
684. STRUMZA M.V. Le métabolisme basal dans l'acclimatement à l'hypoxia
Comp. rend. Soc. biol., Nr. 11, 1904, 1968 (1969)
685. SUND H., BURCHARD W. Sedimentation coefficient and molecular weight of beef liver glutamate dehydrogenase at the microgram and the milligram level
Europ. J. Biochem., 6, 2, 202, 1968
686. SUND C., DHALLS N.S., OLSON R.E. Formation of gigantic mitochondria in hypoxic isolated perfused rat hearts
Experimentia, 25, Nr. 7, 763, 1969
687. SUZUKI TUNNOSUKE. A new type of adenosintriphosphatase from dog kidney
J. Biochem., 65, Nr. 3, 393, 1969
688. SWANN M.M. The mechanism of cell-division. A Study with carbon monoxide on the sea-urchin egg.
Quart. J., Micr. sci., 94, 4, 369, 1953
689. SZIGETI A. Die Wirkung von Aminosäuren auf den Blutzuckerspiegel
Nahrung., 13, Nr. 3, 171, 1969
690. TANASA I., WINTER D., SAUVARD S., STANESER C., NITTELEA J.
Cercetari asupra activitatii energizante a unor aminoacizi
Studii si cercetari fiziolog. Acad. RSR., 13, Nr. 4, 329, 1968
691. TAGER J.M., SLATER E.C. Synthesis of glutamate from L-oxoglutarate and ammonia in rat-liver mitochondria
Bioch. et Biophys. Acta, 77, 227, 1963

692. TALAL M., TOMKINS G.M., Allosteric properties of glutamate dehydrogenases from different sources
Science, 146, 1309, 1964
693. TAPPAN D.V., REYNAFARJE B.D. Tissue Pigment Manifestations of Adaptation to High Altitudes
Am. J. Physiol., Nr. 1, 99, 1957
190
694. TAPPAN D.V., REYNAFARJE D., POTTER R., HURTADO A. Alteration in Enzymes and Metabolites. Resulting from Adaptation to low oxygen tensions
Am. J. Physiol., Nr. 1, 93, 1957, a
190
695. THORNE W., PELEIDERER G., FROWEIN R.A., ROSE J. Stoffwechselvorgänge im Gehirn bei akuter Anoxie, akuter Ischemie und in der Erholung
Pflügers Arch. ges. Physiol., 261, 4, 334, 1955
696. THORNE C.I.R. Characterisation of two malic dehydrogenases from rat-liver
Biochem. et Biophys. acta, 42, 175, 1960
697. THORNE C.I.R., COOPER P.M. Preparation of pig heart-super-mutant malate dehydrogenase
Biochem. et biophys. acta, 81, 397, 1964
698. TIPPLE L.I. Studies on the Cyclophorase system XIV. Mechanism of Action of 2,4-dinitrophenol
Arch. Biochem., 24, 383, 1949
699. TOMKINS G.M., YIELDING K.B., CURRAN I.F., SUMMERS M.R., BITENSKY M.W. The dependence of the substrate specificity on the conformation of crystalline glutamate dehydrogenase
J. Biol. chem., 240, 3793, 1965
700. TORRANCE JOHN D., LENFANT CLAUDE, FINCH CLEMENT. A Compensation to high altitude hypoxia
Förzvarsmedizin, 5, Nr. 4, 187, 1969
701. TYLER D.B. Effect of metal ions and adenosine triphosphate on an oxalacetate-inhibited succinoxidase activity
J. Biol. chem., 246, 1, 395, 1955
702. TZAGALOW A., Mac LENNAN D.H., BYINGTON K.H. Studies of mitochondrial adenosine triphosphatase system. III Isolation from the the Oligomycin-sensitive adenosine triphosphatase complex of the factors which bind F_1 and determine oligomycin sensitivity of bound F_1 .
Biochemistry, 7, 4, 1596, 1968

703. ULBRICK W.C., WHITECHORN W.V., BRENNAN B.B., KRONE J.G.
Tissue respiration of rats acclimatized to low barometric pressure
J. Appl. physiol., 9, 49, 1956
704. VELDSEMA-CUURRIE R.D., SLATER E.C. Inhibition by anions of dinitrophenolinduced ATP-ase of mitochondria
Biochim. et biophys. acta, 162, Nr. 3, 310, 1968
705. WADKINS C.L. Studies of the interaction of ATP-ADP-exchanges enzyme with electron transport chain.
6th Internat. Congr. Biochem. Abstracts, Nr. 4, 10, 62, 1964
706. WARREN C.O., SCHUBMEHL O.D., WOOD I.R. Studies of the mechanism of cobalt polycythemia
Am. J. physiol., 142, 2, 173, 1944
707. WEBERG G.S., MUNRO I.C., MORRISON A.B. Effect of cobalt ions on myocardial metabolism
Canad. J. Biochem., 45, 1219, 1967
708. WELL-MALHERBE H. Glutamic Acid and its Relation to the Nervous System
Bioch. J., 50, 4, XXII, 1952
709. WELL-MALHERBE H. Intelligenzsteigerung durch Glutaminsäure Grundlagen und Wirkungsweise der Glutaminsäure-Therapie
Umschau, Nr. 8, 230, 1955
710. WEINBACH E.C. Oxidative phosphorylation with endogenous substrates of mitochondria
J. Biol. chem., 236, 5, 1526, 1961
711. WESLEY J. A Contribution to the problem of the mechanism of cobalt polycythemia
Arch. internationales de phys., LVIII, 4, 1951
712. WEISSBECKER L. Kobalt als Spurenelemente und pharmakon
Stuttgart: wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 1950
713. WHITECHORN W.V., ULBRICK W.C., KRONE I.G., BRENNAN B.B.
Influence of low oxygen tensions on respiration of tissues of acclimatized rats
Fed. Proc., 12, 154, 1953
714. WIELAND O., MATCHINSKY F., LÖFFLER G., MÜLLER U. Die Abhängigkeit der Ketokörperbildung der Leber von DPNH-Spiegel
Bioch. et Biophys. Acta, 53, 2, 412, 1961
715. WILSON D.E., MERZ Ruth. Inhibition of mitochondrial respiration by uncouplers of oxidative phosphorylation. II. The site of inhibition of succinate oxidative by the uncouplers
Arch. Biochem. and Biophys., 129, Nr. 1, 79, 1969

716. WILSON M.A., CASCARRANO J. The energy-yielding oxidation of NADH by fumarate in submitochondrial particles rat tissues
Biochim. et Biophys. acta, 216, Nr. 1, 54, 1970
717. WOLFF H. Zur pharmacologie and Klinik des Kobalts
Pharmazie, 4, 206, 1952
718. WOLFF J. The effect of thyroxine on isolated dehydrogenases III. The site of action of thyroxine on glutamic dehydrogenase, the function of adenine and guanine nucleotides and the regulation of kinetic to sedimentation changes
J. Biol.chem., 257, 236, 1962,a
719. WALLIN N.Z., WOLLIN E.A., JACOBS N.I. Cytochrome producing anaerobic vibrio succinogenes S.P.N.
J. Bacterial., 81, 6, 911, 1961
720. WOJTCZAK A.B., WOJTCZAK L. The effect of oxalacetate on the oxidation of succinate of in liver mitochondria
Bioch. et biophys. acta, 89, 560, 1964
721. WOJTCZAK A.B., CHAPPELL I.B. Oxalacetate as one of the controlling factors in mitochondrial oxidation
3 rd. F.R.B.C Meeting Abstracts. Warsaw, 141, 1966
722. WOJTCZAK A.B. Control of acetoacetate and B-Hydroxybutyrate production in rat-liver mitochondria
Biochem. biophys. Res. Commun, 31, 4, 638, 1968
723. WOJTCZAK A.B. Inhibitory action of oxalacetate on succinic oxidation in rat liver mitochondria and the mechanism of its reversal
Biochim. et Biophys. acta, 172, 1, 552, 1969
724. WOJTCZAK L., WOJTCZAK A.B., ERNSERER L. The inhibition of succinate dehydrogenase by oxaloacetate
Bioch. et biophys. acta, 191, Nr. 1, 10, 1969,a
725. YIELDING K.J., TOMKINS G.M., TRUNDLE D. Metal ion requirement for pyridine nucleotide-induced desaggregation of glutamate dehydrogenase
Biochim. et biophys. acta, 77, 703, 1961
726. YOUNES A., DURAND R., BRIAND Y., GUATHERON D. Interaction des oxydation du piruvate et glutamate du niveau des mitochondries de coeur de pore
Bull. Soc., chim. biol., 52, 7, 811, 1970
727. ZAHLER W.K., SAITO AKITSUGU, FLEISCHER S. Removal of structural protein from mitochondria
Biochem. and Biophys. Res. Commun, 32, 3, 512, 1968

728. ZEYLEMAKER W.R., VARTANIAN D.V., VEEGER C. The amount of non haem iron and acid labile sulfur in purified pig-heart succinate dehydrogenase
Biochim. et Biophys. Acta, 99, 1, 183, 1965
729. ZEYLEMAKER W.P., KLASSE A.D.M., SLATER E.C. Studies on succinate dehydrogenase. V. Inhibition by oxaloacetate
Bioch. et biophys. Acta, 191, Nr. 2, 229, 1969
730. ZIEGLER F.D. Respiratory and phosphorylation responses to hypox and food restriction
Am. J. Physiol., 212, 1, 197, 1967
731. ZIMMER G., ETTE H., GECK P. Correlation of ATP-ase activity and ATP levels with structural alterations in rat liver mitochondria during swelling
Nature, 221, Nr. 5186, 1160, 1969
732. ZIMMERMAN W. Hypoxie und Gewebstoffwechsel
Der Anaesthesia., 13, 122, 1964