

2. Реалізація впливу електростатичного заряду в умовах нативної плазми підтверджує наявність специфічних трансформаторів цього імпульсу, а сам процес є біологічним за своєю природою.

Література. 1. Атауллаханов Ф.И., Витвицкий В.М., Жаботинский П.М. и др. Метаболические изменения, ведущие к окислительному лизису эритроцитов, поддерживаемых в нормальном состоянии *in vitro* // Биохимия. – 1986. – Т. 51, № 9. – С. 1562–1570. 2. Ермакова Т.А., Токарев Ю.И., Колодей С.В. и др. Устойчивость эритроцитов разного возраста к окислению у лиц с наследственным дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы // Гематол. и трансфузиол. – 1989. – Т. 34, № 3. – С. 45–48. 3. Макаренко Е.В. АТФ-азная активность эритроцитов при хронических заболеваниях печени и желудка // Лаб. дело. – 1987. – № 2. – С. 14–17. 4. Сторажук П.Г., Скляр В.А., Быков И.М. Изменение активности глицеральдегидфосфатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах в зависимости от утилизации глюкозы // Вопр. мед. химии. – 1988. – Т. 34, № 5. – С. 93–96. 5. Шанлавський М.В. Біоінертність як біологічна функція. – Чернівці: Прут, 1996. – 184 с. 6. Beutler E., Blume K.G., Kaplan J.S. et al. International Committee for Standardization in Haematology: Recommended Methods for red-cell enzyme Analysis // Brit. J. Haematol. – 1977. – № 35. – P. 331–340. 7. Flatman P.F. The effects of metabolism on Na⁺-K⁺-Cl⁻ co-transport in ferret red cells // J. Physiol. – 1991. – V. 437. – P. 495–510. 8. Glaser R., Donath J. Temperature and transmembrane potential dependence of shape transformations of human erythrocytes: [Pap.] EMP Symp. High Frequency Electromagnetic Field and Eff. Biol. Syst., Braunschweig, 9–10 Juli, 1991 // Bioelectrochem. And Bioenerg. – 1992. – V. 27, № 3. – P. 429–440. 9. Hogman C.F., Verdier C.-H., Borstrom L. Studies on the mechanism of human red cell loss of viability during storage at 4°C. II. Relation between cellular morphology and viability // Vox. Sang. – 1987. – V. 52, № 1–2. – P. 20–23. 10. Kodicek M., Mircevova L., Marek T. Energy requirements of erythrocytes under mechanical stress // Biomed. Biochim. Acta. – 1987. – V. 46, № 2–3. – P. 103–107. 11. Miseta A., Somoskeoy S., Galambos C. et al. Human and dog erythrocytes: relation between cellular ATP levels, ATP consumption and potassium concentrations // Physiol. Chem. And Phys. Med. NMR. – 1992. – V. 24, № 1. – P. 11–20.

ERYTHROCYTIC ENERGY EXCHANGE UNDER THE ACTION OF AN ELECTROSTATIC CHARGE

M.V.Shaplavskiy, I.K.Vladkovskiy, A.I.Gozhenko

Abstract. An augmentation of erythrocyte catabolism with specific changes of the activity of lactate dehydrogenase, glutathion reductase, glucose-6-phosphat dehydrogenase and, especially, Na⁺/K⁺ ATP-ase were detected after comparing the electrostatic charge action of plastic test tubes produced by the Gilson firm without covering with influence of bioinert covering. Realization of these changes under conditions of autologous plasma *in vitro* is a confirmation of their specificity

Key words: erythrocytes, energy exchange, membrane ATP-ases, bioinertness, microcirculation.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Надійшла до редакції 19.07.2002 року

УДК 616.1/4:616.155.1–008.1]-07

М.В.Шаплавський, А.І.Гоженко

ДИЗІОНІЯ ЕРИТРОЦИТІВ ПРИ ДІЇ ЕЛЕКТРОСТАТИЧНОГО ЗАРЯДУ ЯК ПРОЯВ ЇХ АДАПТИВНОЇ РЕАКЦІЇ

Кафедра госпітальної терапії та клінічної фармакології (зав. – проф. М.Ю.Коломоєць)
Буковинської державної медичної академії

Резюме. У досліджах *in vitro* спостерігали дизіонію в системі еритроцити–нативна плазма при дії електростатичного заряду пластикових пробірок фірми Gilson. Вона характеризувалася накопиченням Na⁺, втрагою Ca²⁺, Cl⁻ і K⁺, затриманням Mg²⁺ та неорганічного фосфату еритроцитами. Виявлені зміни іонного обміну обумовлені стимуляцією активності Na⁺,K⁺ АТФ-ази при дії зовнішніх зарядів, що є ознакою адаптивної реакції еритроцитів з подальшим її виснаженням. Таким чином, електростатичний заряд в аутологічній плазмі є специфічним подразником енергообміну еритроцитів.

Ключові слова: еритроцити, іони, дія електростатичного заряду, адаптація.

Вступ. Порушення іонного балансу в системі еритроцити – плазма можуть відігравати важливу роль у підсиленні енергообміну червонокривців під впливом електростатичного заряду на нативну кров. Очевидно, така реакція еритроцитів, у першу чергу, пов'язана з динамікою зарядів на їх поверхні при проходженні через мікроциркуляторне русло [6]. У зв'язку з цим, проведення досліджень у зазначеному напрямку дозволить поглибити вивчення ролі еритроцитів у процесах мікроциркуляції крові.

Мета дослідження. Вивчити вплив електростатичного заряду на іонний баланс в системі еритроцити – нативна плазма у дослідах *in vitro*.

Матеріал і методи. Методологічною основою проведеного дослідження стало використання біоінертного покриття, що блокує утворення електростатичного заряду на поверхні штучного ізотропного матеріалу, а отже, і зміни фізико-хімічного стапу крові при її контакті з ним.

Проведено порівняльне дослідження основних показників іонного обміну еритроцитів донорської крові (при заборі використовувався гліогіцер у співвідношенні 1:4), що зберігалася при 4°C у пластикових пробірках фірми Gilson без покриття (біоактивна оболонка) та з покриттям біоінертним матеріалом БМШ (біоінертна оболонка). Герметизована кров (336 проб) зберігалася у рухомому режимі. Забір проб проводився під захистом азоту через 2, 18 та 36 діб [6].

Співвідношення вмісту АТФ у еритроцитах (мкмоль/г Нв), що зберігались у біоінертному і звичайному посуді, визначалося з використанням набору реактивів фірми "Boehringer Mannheim". АТФ-азну активність еритроцитів (МО/г Нв) досліджували за методом Є.В.Макаренка з використанням в інкубаційній суміші компонентів (NaCl, KCl та MgCl₂), що активують Na⁺, K⁺-АТФ-азу (КФ 3.6.1.3) [2].

Рівень Na⁺ і K⁺ в еритроцитах та плазмі крові досліджували за допомогою методу полум'яної фотометрії, неорганічного фосфору – за С. Fiske, Y. Subbarow [4]. Для визначення вмісту Ca²⁺, Mg²⁺ та Cl⁻ використані набори реактивів фірми "La Chema".

Результати дослідження та їх обговорення. При аналізі результатів дослідження (рис.) встановлено, що еритроцити крові, яка зберігалася у біоінертній оболонці, менш інтенсивно накопичували Na⁺ і втрачали K⁺ при порівняно низькій активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази. Не виключено, що деполяризуюча дія біоактивного матеріалу пробірок є індуктором синтезу фермента. Важливе значення, ймовірно, також має полегшена дифузія, чим зумовлений контртранспорт Na⁺ і K⁺ [1].

Принциповою відмінністю даного дослідження є порівняння умов дії біоактивних і біоінертних пробірок. Тобто, якщо відсутні відмінності їх впливу на енергообмін, то за інших рівних умов АТФ буде лімітувати активність Na⁺, K⁺-АТФ-ази як її субстрат. Але якщо умови різняться поляризаційним (біоактивним) впливом, здатним деполяризувати мембрану еритроцитів, то проникнення Na⁺ у клітину, як і активація АТФ-ази цим іоном, є неминучими. Іншими словами, виникає парадоксальна ситуація: за збільшення активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази еритроцити втрачають K⁺ і накопичують Na⁺. Імовірно, перерозподіл іонів передую активзації АТФ-ази. Очевидною є причина виснаження ресурсу АТФ еритроцитів за відсутності біоінертизації. Подібно до перерозподілу Na⁺ і K⁺, виявлено заміщення Ca²⁺ на Mg²⁺ в еритроцитах крові, що зберігалася у звичайних пробірках. За умов біоінертного оточення таке заміщення було менш інтенсивним. У цілому факт взаємозаміни іонів Ca²⁺ і Mg²⁺, близьких за своїми хімічними властивостями, при реалізації різноманітних ферментативних процесів є достатньо відомим [7]. І все ж, така взаємозаміна обмежена, оскільки в еритроцитах крові, що зберігалася у звичайних пробірках, підвищення активності ферментів катаболізму глюкози, більшість з яких потребує Mg як алостеричного фактора та підсилення функціонування магній-залежних іонних транспортних систем [9], супроводжувалось інтенсивнішим поглинанням Mg. Водночас спостерігалася затримка фосфату еритроцитами.

Щодо виявленого нами істотнішого поглинання Cl⁻ еритроцитами крові, що зберігалася в біоінертних пробірках, воно може бути пов'язаним з вторинним обміном Cl⁻/HCO₃⁻, який підсилюється внаслідок накопичення кислих продуктів у червонокривцях при підсиленні гліколізу за тих же умов.

Грунтуючись на достатньо аргументованій гіпотезі про особливу роль Ca²⁺, який обов'язково бере участь у початкових фазах адаптивних клітинних реакцій, важливим є розгляд змін енерго-пластичного комплексу при його активації та іонного обміну у взаємозв'язку. Зміни іонного балансу між еритроцитами і плазмою у контексті цієї гіпотези, можна назвати інформаційно-функціональними у комплексі адаптивних реакцій еритроцита. Цей біологічний об'єкт спостерігався нами в особливій ситуації, а саме у відриві від біологічно спрямованої дії зовнішніх нейрогуморальних агентів, які керують функціями еритроцита, у тому числі при його екстремальних навантаженнях. Поза сумнівом, зазначена ситуація ні філогене-

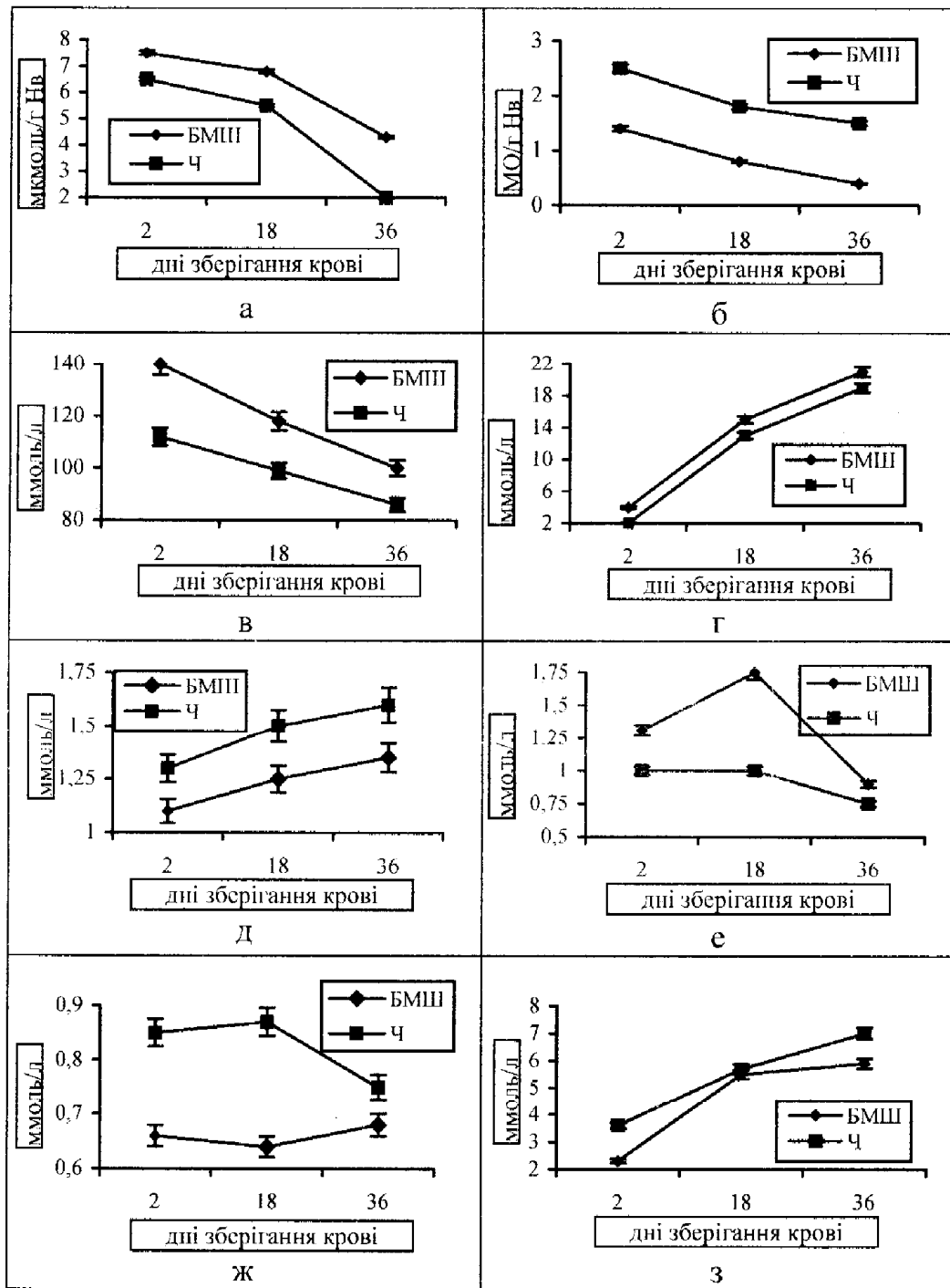


Рис. Концентрація АТФ, активність Na^+, K^+ АТФ-ази та дисонія еритроцитів при зберіганні крові в умовах біоінертизації (БМШ) та без неї (Ч).
 а – вміст АТФ у еритроцитах; б – активність Na^+, K^+ АТФ-ази в еритроцитах;
 в – концентрація Na^+ у плазмі крові; г – концентрація K^+ у плазмі крові;
 д – концентрація Ca^{2+} у плазмі крові; е – концентрація Mg^{2+} у плазмі крові.
 ж – концентрація Cl^- у плазмі крові; з – концентрація фосфатів у плазмі крові.

тично, ні функціонально не передбачена в арсеналі адаптивних клітинних реакцій. Тобто, вивчення еритроцита як "біофізико-хімічного приладу" є достатньо умовним. З іншого боку, біологічна динаміка вищезазначених агентів, що діє з обов'язковим забезпеченням гомеостазу, не дозволила б висвітлити частку автономії еритроцита у забезпеченні реакцій адаптивного функціонального порядку.

Якщо враховувати ту ж гіпотезу, яка вказує на подібність адаптивних реакцій клітини, що діє з умовою участі хімічних агентів, споріднених із системою згорання крові, то стає зрозумілим, чому поява самого антикоагулянта (глюгіцир) призводить до зниження активності Na^+, K^+ -АТФ-ази – обов'язкового учасника взаємовідносин між еритроцитами і плазмою [5].

При зберіганні еритроцитів у середовищі з недостатнім рівнем Na^+ , наприклад, у присутності гепарину, проникливість Ca^{2+} не змінюється [10]. Складається враження, що для включення енергозалежних реакцій еритроцита, яке є наслідком зовнішніх впливів, плазма має містити обидва ці іони у певному співвідношенні.

Вплив Ca^{2+} на еритроцити опосередкований, певною мірою, кальмодуліном [3]. Затримка Ca^{2+} еритроцитами пов'язана зі зниженням активності Na^+, K^+ -АТФ-ази і здійснюється поза функціонуванням цитоскелету клітин, що підтверджується виявленими нами змінами рівня Ca^{2+} і фосфату, активності Na^+, K^+ -АТФ-ази при зберіганні крові у біоінертизованому посуді.

Певною мірою, наші дані підтверджують уявлення про те, що рівень Ca^{2+} в еритроцитах обернено залежний від активності Na^+, K^+ -АТФ-ази [3], а Ca і Na концентрують за центри акцепції в еритроцитах [11].

Стверджується також, що Na^+/K^+ -контртранспорт, які і K^+/K^+ -обмін детерміновані внутрішньоклітинною концентрацією Na^+ , від якої, у свою чергу, залежить активація Na^+/K^+ помпи [8]. Збільшення концентрації Na^+ у два рази сприяє підсиленню дії Na^+/K^+ насосу при одночасному зростанні числа молекул помпи [12].

Таким чином, збільшення АТФ-азної активності еритроцитів, що зберігалися у звичайному посуді, може бути пов'язано зі швидкою втратою Ca^{2+} і збільшенням внутрішньоклітинного рівня Na^+ . При рівній вихідній концентрації всіх іонів, за умови поляризаційних навантажень на систему крові *in vitro*, чим відрізняється дія звичайних пробірок Gilson від дії біоінертизованих, відбувався перерозподіл іонів, що спричиняв високу активність Na^+, K^+ -АТФ-ази. У зв'язку зі значною енергоємністю цього процесу відбувалися зміни енерго-пластичного комплексу еритроцитів. Об'рунтування наявності енергозалежної відповіді еритроцитів на поляризаційну дію ззовні, дало нам можливість сформулювати поняття поляризаційного стресу.

Водночас, якщо еритроцити подібним чином здатні реагувати *in vitro* в оточенні нативної плазми, то, напевно, подібна реакція притаманна їм *in vivo*. Отже, реально виникає необхідність перевірки контактного гемолізу як тесту стану енерго-пластичного комплексу еритроцитів, наприклад, при порушенні мікроциркуляторних процесів у організмі. Адже саме при мікроциркуляторних навантаженнях поляризаційні впливи на еритроцити *in vivo* мають бути максимальними.

Висновки. У досліджах *in vitro* спостерігається дизіонія в системі еритроцити-нативна плазма при дії електростатичного заряду пластикових пробірок. Вона характеризується накопиченням Na^+ , втратою Ca^{2+} , Cl^- і K^+ , затриманням Mg^{2+} та неорганічного фосфату еритроцитами. Виявлені зміни іонного обміну обумовлені стимуляцією активності Na^+, K^+ АТФ-ази при дії зовнішніх зарядів, що є ознакою адаптивної реакції еритроцитів з наступним її виснаженням. Таким чином, електростатичний заряд в аутологічній плазмі є специфічним подразником енергообміну еритроцитів.

Література. 1. Бондарев Д.П., Козлов Н.Б. Соотношение энергетического обмена, содержания Na^+ , K^+ , активность Na^+ , K^+ АТФ-азы в эритроцитах с их объемом и формой в условиях перегревания организма // Вопр. мед. химии. - 1988. - Т. 34, № 5. - С. 87-91. 2. Макаренко Е.В. АТФ-азная активность эритроцитов при хронических заболеваниях печени и желудка // Лаб. дело. - 1987. - № 2. - С. 14-17. 3. Орлов С.Н., Покудин Н.И., Кошелевцев Ю.В. Транспорт калия анионов и активность Na^+ насоса мембран эритроцитов: три различных механизма регуляции внутриклеточным кальцием // Биохимия. - 1987. - Т. 52, № 8. - С. 1373-1386. 4. Тодоров И. Клинические лабораторные методы исследования в педиатрии. - София: Медицина и физкультура, 1968. - 1064 с. 5. Трусов В.В., Зеленин А.А., Маризин С.А. Исследование активности Na^+/K^+ АТФ-азы консервированных эритроцитов радионуклидным методом // Гематол. и трансфузиол. - 1986. - Т. 33, № 10. - С. 19-21. 6. Шаплавський М.В. Біоінертизація як біологічна функція. - Чернівці: Прут, 1996. - 184 с. 7. Caride A.J., Alcides F., Garrahan F.J. The reaction of Mg^{2+} with the Ca^{2+} ATP-ase from human red cell membranes and its modification by Ca^{2+} . // Biochim. et biophys. acta: Biomembranes. - 1986. - V.863 (M 144), N 2. - P. 165 - 177. 8. Duhm J. Furasemid - sensitive K^+ (Rb) transport in human erythrocytes modes of operation, dependence of extracellular and intracellular Na^+ , kinetics, pH dependency and the effect of cell vasum and N - ethylmaleimide // J. Membrane Biol. - 1987. - V.98, N 1. - P. 15 - 32. 9. Feray J. - C., Garay R. An Na^+ - stimulated Mg^{2+} - transport system in human red blood cells // Biochim et biophys. acta: Biomembranes. - 1986. - V.856 (M 137), N 1. - P. 76 - 84. 10. Mc Namara M.K., Wiley J.S. The calcium permeability of cold stored erythrocytes // Brit.J. Haematol. - 1987. - V.66, N 3. - P. 401 - 403. 11. Milnick M.A. Na - Ca exchange: Evidence against a Ping - Pong mechanism and against a pool in ferret red blood cells // Amer. J. Physiol. - 1991. - V.261, N1, Pt 1. - P. 185 - 193. 12. O'Neill W.C., Mikkelsen R.B. The role of pump number and intracellular sodium and potassium in determining Na, K pump activity in human erythrocytes // Metabolism. - 1987. - V.36, N 4. - P. 345 - 350.

ERYTHROCYTE DYSIONIA DUE TO THE ACTION OF AN ELECTROSTATIC CHARGE AS A MANIFESTATION OF THEIR ADAPTIVE REACTION

M.V.Shaplavsky, A.I.Gozhenko

Abstract. Dysionia in the erythrocyte-native plasma system was observed in vitro experiments under the action of an electrostatic charge of plastic test tubes of the Gilson firm. It was characterized by a Na⁺ accumulation, Ca²⁺, Cl⁻ and K⁺ loss, a delay of Mg²⁺ and inorganic phosphate retention by erythrocytes. The revealed changes of ion exchange were due to a stimulation of the Na⁺.K⁺ ATP-ase activity under the штадрты of external charges, being a sign of an erythrocytic adaptive reaction followed by its further depletion. Thus, an electrostatic charge in autologous plasma is a specific irritant of erythrocytic energy exchange.

Key words: erythrocytes, ions, electrostatic charge action, adaptation.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Надійшла до редакції 19.07.2002 року