

**ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ  
Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФ-АЗЫ В МЕМБРАНАХ  
ЭРИТРОЦИТОВ В ДИНАМИКЕ НИТРИТНОЙ  
МЕТГЕМОГЛОБИНЕМИИ**

Филиппова О.Н., Шперлинг И.А.,  
Новицкий В.В., Рязанцева Н.В.,  
Рогов О.А., Куприна Н.П.,  
Акимова В.В., Бас В.В.

*Сибирский государственный  
медицинский университет,  
Томский военно-медицинский институт,  
Томск*

Большая распространенность метгемоглобинообразователей в среде обитания человека определяет высокую частоту и неблагоприятные исходы вызванных ими отравлений. В основе действия этой группы веществ лежат окисление гемового железа из Fe<sup>2+</sup> в Fe<sup>3+</sup> и нарушение функции дыхательных ферментов, что становится причиной развития гипоксии смешанного типа. Уже считается установленным факт изменения функциональных свойств эритроцитов при метгемоглобинемиях (форма, деформируемость, агрегационная способность), что рассматривается как следствие структурно-метаболической перестройки красных клеток крови и один из важнейших механизмов формирования гипоксического синдрома. Поэтому выявление факторов, влияющих на функциональную активность эритроцитов при метгемоглобинемиях, является весьма актуальным.

Одним из факторов, определяющих внутриэритроцитарный гомеостаз, является активность трансмембранных ионных переносчиков, обеспечивающих мембранный потенциал и осмотическую стабильность цитоплазмы. Ведущее место в ряду такого рода клеточных образований занимает мембранассоциированный фермент – Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФ-аза.

В связи с этим *целью* нашего исследования явилось изучение активности Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФ-азы в динамике метгемоглобинемии в эксперименте.

**Материалы и методы.** Эксперименты проведены на крысах-самцах массой 190-250 г, которым с целью моделирования метгемоглобинемии вводили однократно внутривенно 0,6% раствор нитрита натрия (НН) в физиологическом растворе в дозе 90 мг/кг (DL<sub>50</sub>). Исследовали кровь выживших животных, полученную методом декапитации через 1,5 ч; 1; 3; 5; 7; 13 и 21 сут после введения ксенобиотика. Кровь стабилизировали гепарином (50 ЕД/мл). Контрольным животным вводили эквивалентное количество физиологического раствора. Количество животных в группах – 6.

Определяли: концентрацию метгемоглобина (MetHb) в крови спектрофотометрическим методом по М.С. Кушаковскому (1968); активность Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФ-азы по содержанию неорганического фосфора (Pi) в мембранах эритроцитов при инкубации в среде (мМ): NaCl – 125; KCl – 25; MgCl<sub>2</sub> – 3; ЭДТА – 0,5; АТФ – 2; трис-НСl – 50 (рН – 7,4) при 37°С в течение 1 ч (Казеннов А.М. и соавт., 1984). Мембраны эритроцитов для определения активности Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФ-азы выделяли по методу J.T. Dodge (1963).

Результаты обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента (достоверность различий считали при p<0,05).

**Результаты и обсуждение.** Через 1,5 ч после введения НН в крови у экспериментальных животных было зарегистрировано повышение уровня MetHb до 50,5±2,3%. Через 1 сут. и в последующие сроки наблюдения его содержание не отличалось от значений в контрольной группе (1,2±0,2%).

Исследование активности Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФ-азы выявило снижение изучаемого параметра до 13-х сут наблюдения включительно. Максимальное отклонение показателей активности фермента от нормы отмечалось как в период наибольшего содержания MetHb в крови (0,008±0,001 ммоль/мг белка/ч при 0,029±0,001 ммоль/мг белка/ч, p<0,05), так и до 7-х сут эксперимента включительно (0,009±0,001, p<0,05) в условиях нормального содержания MetHb в крови. Несмотря на динамику активности исследуемого субстрата в сторону восстановления до нормы, на 21-е сут. наблюдения сохранялись достоверно низкие ее значения.

Выявленные изменения свидетельствуют о том, что окислительная модификация гемоглобина является одним из вариантов регуляции функции АТФ-зависимого трансмембранного Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> переноса, что согласуется с данными об эхиноцитарно - сфероцитарной трансформации эритроцитов при метгемоглобинемиях. Вместе с тем, образование мет-формы гемоглобина можно рассматривать в качестве иницирующего фактора, запускающего цепь долговременного, а возможно и постоянного, подавления ионотранспорта, о чем свидетельствует низкая активность Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФ-азы в период нормального содержания MetHb.

Известно, что мембранные белки эритроцита в течение всей его жизни не синтезируются и не обновляются, поэтому длительная супрессия активности Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФ-азы свидетельствует, в большей части, в пользу необратимости изменений в активных центрах фермента. Механизмами, формирующими эти изменения, могут выступать факторы различного генеза, в том числе дезорганизация липидного бислоя продуктами ПОЛ, активными формами кислорода, прямым воздействием токсиканта. Мы не исключаем влияния этих же факторов на саму молекулу фермента.

Таким образом, снижение активности Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФ-азы при метгемоглобинемии, индуцированной нитритом натрия, по всей видимости, носит необратимый характер, что реализуется изменением формы и других показателей функциональной активности эритроцитов в течение продолжительного времени.

Работа представлена на заочную электронную конференцию «Фундаментальные исследования», 20-25 февраля 2005 г. поступила в редакцию 15.04.05 г.