

ВЛИЯНИЕ ОБЩЕЙ ВИБРАЦИИ НА ФУНКЦИИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ОРГАНОВ КРОЛИКОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

УДК 613.644+ 612.35/.46

© В. В. Воробьева¹, В. Г. Хоробрых², П. Д. Шабанов¹

¹ Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург;

² Кировская государственная медицинская академия, Киров

Ключевые слова:

общая вибрация; митохондрии; энергетический обмен; печень; почка; биоэнергетическая гипоксия; низкоэнергетический сдвиг; дистрофия.

Резюме

Целью работы явилось экспериментальное изучение активности системы энергопродукции ткани печени и почки кролика при неблагоприятном действии различных режимов общей вибрации. Изучение энергозависимых реакций нативных митохондрий печени и почки проводили полярографическим методом с помощью закрытого мембранного электрода типа Кларка. Найдено, что системы энергопродукции печени и почки вовлекаются в ответную реакцию организма на воздействие общей вибрации. Изменения функциональной активности митохондрий паренхиматозных органов зависят от исследованных режимов вибрации (частоты и длительности) и проявляются нарушением баланса между функциональной активностью ФАД- и НАД-зависимых звеньев дыхательной цепи. Повышение частоты и длительности вибрации ведет к развитию низкоэнергетического сдвига с активацией системы окисления янтарной кислоты и торможением НАД-зависимого звена дыхательной цепи митохондрий и сопровождается признаками дистрофии тканей.

Список сокращений

ДЦ — дыхательная цепь;

ИК — интактный контроль;

НАД-зависимое звено — никотинамидадениндинуклеотид-зависимое звено;

ФАД-зависимое звено — флавинадениндинуклеотид-зависимое звено.

ВВЕДЕНИЕ

Среди техногенных производственных факторов одним из наиболее распространенных и значимых является вибрация, действующая как хронический стрессор, вызывающий напряжение адаптационно-компенсаторных систем организма и формирование вибрационной болезни [22, 51]. На вибрационное воздействие откликаются практически все гомеостатические системы организма, их ответная реакция зависит от энергии колебания [69, 58]. Действие вибрации на биологические структуры приводит

к нарушению структурной организации тканей, что можно подтвердить определением значимых тканевых биомаркеров [23, 74]. При этом максимально негативным эффектом обладает частота вибрации, резонансная к частоте данной ткани или органа, так как материальной основой резонанса в биологических объектах являются масса и ее упругие свойства. Диапазон резонансных частот для тканей и органов теплокровных животных и человека находится в диапазоне от 1 до 200 Гц [67, 70, 72].

Вибрация порождает гидродинамические силы, вызывающие колебания центрального и периферического внутрисосудистого давления и изменяющие кровенаполнение паренхиматозных органов, периферический крово- и лимфоотток, значительные изменения ультраструктуры клеток мышечного слоя артерий, деградацию регуляции их тонуса. Генерализованная эндотелиальная дисфункция, усугубляемая активизацией прооксидантной системы [57], ведет к микро- и макроангиопатиям, нарушению гемодинамики и микроциркуляции и завершается формированием синдрома регенераторно-пластической недостаточности (висцеропатии) на уровне паренхиматозных органов. Выраженность этих изменений может достигать до степени деструктуризации и паранекроза [20, 53, 59].

Несмотря на многочисленные данные о патогенезе вибрационной болезни [15, 31, 46, 49, 50, 66, 71], роль нарушения тканевой биоэнергетики в развитии вибрационно-обусловленных висцеропатий, и патологии печени и почки, в том числе остаются изученными не достаточно, что снижает эффективность профилактических и лечебных мероприятий. Поэтому целью исследования явилось изучение влияния общей вибрации на функции дыхательной цепи печени и почки кролика.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВИБРАЦИОННО-ОПОСРЕДОВАННЫХ НАРУШЕНИЙ *IN VIVO*. ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ И ПОЧКИ И МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ТКАНЕЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВИБРАЦИИ

Эксперименты проводили на 80 кроликах-самцах породы Шиншилла массой 2,5–3 кг в возрасте 3–4 месяца с соблюдением «Правил проведения

■ Таблица 1. Экспериментальные группы животных

Частота общей вертикальной вибрации в Гц	Число сеансов общей вертикальной вибрации	n
–	–	20
8	7	10
8	21	10
8	56	10
44	7	10
44	21	10
44	56	10

n — число кроликов в группе

работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Действие общей вертикальной вибрации с амплитудой 0,5 мм осуществляли с помощью промышленной установки УВ 70/200 (производства машиностроительного объединения «Маяк», г. Киров). Ежедневные сеансы по 60 мин с частотой 8 и 44 Гц проводили в течение 7, 21, 56 дней (без выходных) в утренние часы с 9.00 до 11.00 в осенне-зимний период [4].

Экспериментальные животные были сгруппированы в соответствии с режимом вибрационного воздействия (табл. 1)

Получение нативных митохондрий печени и почки осуществляли согласно методическим рекомендациям, разработанным М. Н. Кондрашовой [25]. Для имитации состава внутриклеточной среды использовали апробированные в других исследованиях [5–13, 41] сложные солевые растворы (табл. 2). Для приготовления растворов применяли следующие реактивы: сахароза, KH_2PO_4 , MgSO_4 , KCl (Реахим, Россия); трис- HCl , ЭДТА (Serva, Германия); субстраты окисления: натриевую соль янтарной кислоты, смесь натриевых солей глутаминовой и яблочной кислоты (Глу+Мал), разобшитель 2,4-динитрофенол (ДНФ) (Sigma, США); ингибиторы дыхательной цепи: амитал натрия (Serva, Германия) и малонат (Реахим, Россия). Все растворы готовили *ex tempore* на бидистиллированной воде.

После вскрытия брюшной полости быстро извлекали печень и почку, отделяли кусочки органов массой примерно 250–300 мг (за 20–30 секунд), затем помещали в среду выделения, охлажденную до температуры тающего льда. В дальнейшем все манипуляции с тканями, до помещения пробы в полярографическую ячейку, проводили строго при температуре 0 °С в ледяной бане.

Перед приготовлением гомогената, с целью дополнительного измельчения, ткани печени и почки продавливали через охлажденный пресс, изготовленный из нержавеющей стали, с отверстиями диаметром 1 мм. Полученные кусочки ткани гомогенизировали в калиброванном гомогенизаторе типа Даунса из кварцевого стекла с тефлоновым пестиком при соотношении «среда выделения»: «ткань» = 1:2. Ткань разрушали мягкими продольными движениями пестика (10 тракций), затем гомогенат процеживали через капроновую сетку в охлажденную пробирку. Приготовленный таким образом 30%-й гомогенат получали через 7–10 минут с момента извлечения тканей из организма животного [30].

Временной режим забора ткани печени и почки, гомогенизации и времени инкубации был стандартизован. В целом с момента забоя животного до окончания полярографического измерения показателей активности митохондрий проходило не более 40 минут, что соответствовало методическим требованиям обеспечения адекватности статуса митохондрий *in vitro* их «нативному» состоянию, максимально приближенному к *in vivo* [30].

Для получения «нативных» митохондрий исключали этап промывки, использовали высококонцентрированный гомогенат, а из среды выделения и инкубации исключали ЭДТА. Этот методический подход, предложенный М. Н. Кондрашовой [19, 30] позволял сохранить пул эндогенных метаболитов, Ca^{2+} и Mg^{2+} , характерных для исходного состояния ткани на момент их изъятия из организма биомодели. Согласно данным М. Н. Кондрашовой работа с митохондриями в составе тканевого гомогената обеспечивает их структурно-функциональную сохранность и позволяет дифференцировать экспе-

■ Таблица 2. Рабочие концентрации компонентов среды выделения и инкубации, используемые для изучения ответных реакций нативных митохондрий ткани печени кролика

Компоненты рабочего раствора	Концентрации компонентов, ммоль	
	Среда выделения	Среда инкубации
Сахароза	250	0
Трис- HCl , pH 7,2	10	10
KH_2PO_4	0	20
MgSO_4	0	10
KCl	0	150

риментальных животных по биоэнергетическому статусу ткани в зависимости от различных внешних воздействий, направленных на целостный организм [30].

Изучение функциональной активности нативных митохондрий печени и почки кроликов проводили полярографическим методом в ячейке объемом 1 мл, при 37 °С в среде инкубации, уравновешенной с кислородом воздуха [25]. Скорость дыхания митохондрий (V) в зависимости от добавок в ячейку выражали в нг-атом O мин⁻¹ мг⁻¹ белка. Метаболические состояния митохондрий «покоя» и «активности» моделировали *in vitro* при варьировании экзогенных энергетических субстратов (до и после введения в ячейку 2,4-динитрофенола) [25, 44].

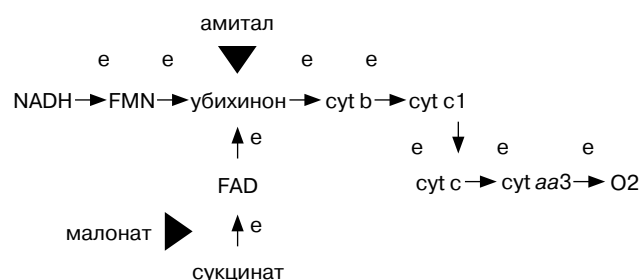
Вклад в эндогенную дыхательную активность ($V_э$) митохондрий печени и почки НАД- и ФАД-зависимых субстратов оценивали по данным ингибиторного анализа [38, 43] с амиталом (ам.) или малонатом (мал.), вводимым в ячейку на фоне эндогенного дыхания до концентрации 2 ммоль. Чувствительность $V_э$ к ингибиторам вычисляли по формуле: «Инг.ч.» = $(1 - V_{инг}/V_{энд}) \times 100\%$, где «инг.ч.» — чувствительность эндогенного дыхания к малонату (мал.ч.) или амиталу (ам.ч.); $V_{инг}$ ($V_{ам}$ или $V_{мал}$) — скорость окисления эндогенных энергетических субстратов в присутствии соответствующего ингибитора в ячейке. При концентрации ингибиторов 2 ммоль препараты, полученные от животных, подвергнутых разным воздействиям, дифференцировались наиболее рельефно, что позволяло в нашем исследовании оценить динамику соотношения ФАД- и НАД-зависимых фракций ДЦ в митохондриях печени и почки в зависимости от режимов вибрации (рис. 1).

Оценивали динамику соотношения парциальных реакций эндогенного дыхания, характеризующих изменчивость основных потоков электронов при окислении НАД- и ФАД-зависимых субстратов в ферментных комплексах соответствующих фракций ДЦ, как отклик на воздействие неблагоприятного фактора *in vivo*. Для этого в доступных для нашего исследования метаболических состояниях митохондрий дополнительно ввели «регуляторные» коэффициенты приращения субстратного дыхания (КП) в состоянии покоя (п) и разобщения (р):

- 1) КПэ = [ФАД/НАД]э = мал.ч/ам.ч.;
- 2) КПп = [ФАД/НАД]п = $V_{як}/V_{глю+мал}$;
- 3) КПр = [ФАД/НАД]р = $V_{як-р}/V_{глю+мал-р}$,

где мал.ч. и ам.ч. — доли малонат- и амиталчувствительного эндогенного дыхания, $V_{як}$ и $V_{глю+мал}$ — скорости окисления экзогенного сукцината и смеси глутамата и малата в состоянии «покоя», $V_{як-р}$ и $V_{глю+мал-р}$ — скорости окисления субстратов в «активном» состоянии митохондрий в условиях АТФ-азной нагрузки, моделируемой с помощью разобщителя 2,4-ДНФ [32, 60].

В качестве экзогенных субстратов использовали ФАД-зависимый субстрат — янтарную кислоту



■ Рисунок 1. Схема дыхательной цепи митохондрий с указанием точек приложения действия ингибиторов. Приведено с изменениями из работы (Уайт А. и соавт., 1981)

($V_{як}$), 1 ммоль или смесь НАД-зависимых субстратов — глутаминовой и яблочной кислот (Глу+мал) по 3 ммоль ($V_{глю+мал}$). Введением в ячейку разобщителя 2,4-динитрофенола (2,4-ДНФ) до 20 мкмоль имитировали состояние АТФ-азной активности митохондрий.

Помимо кинетических параметров ($V_э$, $V_{як}$, $V_{глю+мал}$, $V_{як-р}$, $V_{глю+мал-р}$) были введены регуляторные параметры. Они количественно характеризовали переход митохондрий в разные состояния (от эндогенного в состояние «покоя»; от «покоя» в «активное» состояние).

Рассчитывали коэффициенты стимуляции (КС): $КС_{як} = V_{як}/V_{э}$; $КС_{глю+мал} = V_{глю+мал}/V_{э}$; $КР_{як} = V_{як-р}/V_{як}$; $КР_{глю+мал} = V_{глю+мал-р}/V_{глю+мал}$, где: КС — стимуляция эндогенного дыхания экзогенным субстратом, $V_{як}$ и $V_{глю+мал}$ — скорость дыхания митохондрий после добавления экзогенного субстрата (янтарной кислоты или Глу+Мал); КР — стимуляция субстратного дыхания 2,4-ДНФ, $V_{як-р}$ — скорость окисления экзогенной янтарной кислоты после добавления 2,4-ДНФ; $V_{глю+мал-р}$ — скорость окисления экзогенных глутамата и малата после добавления 2,4-ДНФ. Коэффициенты КС и КР выражали в условных единицах.

Концентрацию белка в гомогенате ткани печени измеряли модифицированным микробиуретовым экспресс-методом [65], который обладает высокой специфичностью, чувствительностью, не зависит от аминокислотного состава белка и характеризуется линейной связью между концентрацией белка и интенсивностью окраски проб в широком диапазоне концентраций.

Повреждающее действие общей вибрации на печень и почку подтверждали гистологически. Обработку гистологического материала осуществляли в ходе стандартной гистологической спиртопарафиновой проводки. Окрашивание препаратов производили гематоксилином и эозином [17, 45].

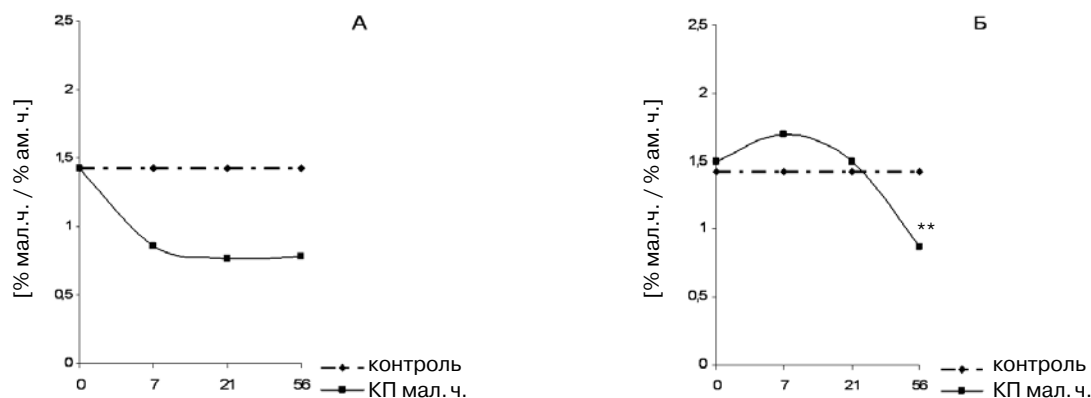
Статистическую обработку данных проводили с помощью программ STATISTICA for Windows 6.0. Значимость межгрупповых различий оценивали по параметрическому (t-критерий Стьюдента) или непараметрическому (U-тест Вилкоксона–Манна–Уитни) критериям в зависимости от типа распределения.

ВЛИЯНИЕ ОБЩЕЙ ВИБРАЦИИ НА ФУНКЦИИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ ПЕЧЕНИ И МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ СТРУКТУРУ ТКАНИ

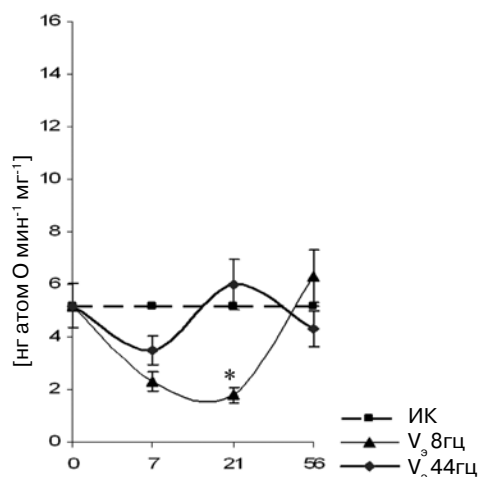
Известно, что скорость эндогенного дыхания гомогената ткани представляет собой интегративный параметр, свидетельствующий об оснащенности ДЦ эндогенными метаболитами, накопленными в процессе ее функционирования и отвечающий на воздействие внешних факторов, направленных на целостный организм [21, 24, 25, 26, 44]. В нашем исследовании динамика показателя эндогенного дыхания зависела от режимов (частоты и длительности) вибрационного воздействия (рис. 2).

Эндогенное дыхание ткани обеспечивается преимущественно потоком электронов через наиболее продуктивные I (НАД-зависимый) и II (ФАД-зависимый) фермент-субстратные комплексы, вклад которых в активность митохондрий оценивается посредством ингибиторного анализа [38, 43]. Амита́л ингибирует поток электронов в дыхательной цепи от НАД-зависимых субстратов, поэтому чувствительность дыхания тканевого препарата (гомогената) к этому ингибитору (% ам. чувст.) пропорциональна активности этого участка и вкладу эндогенных субстратов, окисляющихся по данному пути. Чем выше чувствительность дыхания к амиталу, тем выше вклад НАД-зависимого звена ДЦ в эндогенное дыхание. Малонат — абсолютный специфический ингибитор сукцинатдегидрогеназы (СДГ) — фермента, окисляющего янтарную кислоту на участке ФАД-зависимого звена ДЦ. При добавлении малоната в полярографическую ячейку отсекается та часть эндогенного дыхания, которая определяется вкладом янтарной кислоты [44].

Ингибиторный анализ показал, что коэффициент приращения мал. ч. (КП мал. ч.) на фоне воздействия вибрации 8 Гц (рис. 3 А) снизился на 40 % от показателей контрольных животных, сохранялся на этом уровне до завершения вибрации.



■ Рисунок 3. Динамика соотношения парциальных реакций скорости эндогенного дыхания митохондрий печени кролика по данным ингибиторного анализа при вибрации 8 Гц (А) и 44 Гц (Б). Звездочками обозначены статистически значимые различия между группами контрольных животных и подвергнутых вибрации. ** — $p < 0,01$



■ Рисунок 2. Изменение скорости эндогенного дыхания нативных митохондрий печени кролика (нг- атом $O \text{ мин}^{-1} \text{ мг}^{-1}$ белка) на фоне вибрации 8 и 44 Гц длительностью 7, 21, 56 сеансов относительно показателей группы интактного контроля (ИК). Звездочкой обозначены статистически значимые различия между группами интактных и подвергнутых вибрации животных. * — $p < 0,05$

Через 7 сеансов вибрации 44 Гц (рис. 3 Б) КП мал. ч. увеличивался на 20 % по отношению к показателям интактной группы, свидетельствуя о накоплении эндогенной янтарной кислоты и увеличении ее вклада в процессы окисления в ткани печени. После 56 сеансов вибрации 44 Гц данный показатель становился на 40 % ($p < 0,01$) ниже уровня контроля, отражая начавшиеся процессы повреждения в ФАД-зависимом звене ДЦ и истощение механизмов адаптивных перестроек, реализуемых, прежде всего, через изменение метаболизма янтарной кислоты [38, 39, 78].

Скорость субстратного дыхания ($V_{\text{як}}$ и $V_{\text{глу+мал}}$) в митохондриях тканей интактных животных, как правило, выше, чем скорость эндогенного дыхания и зависит от проницаемости мембран для субстрата [44]. Субстратное дыхание отражает способность соответствующего звена ДЦ окислять определенный энергетический субстрат (НАД- или ФАД-зависимый) и использовать его донором протонов и электронов

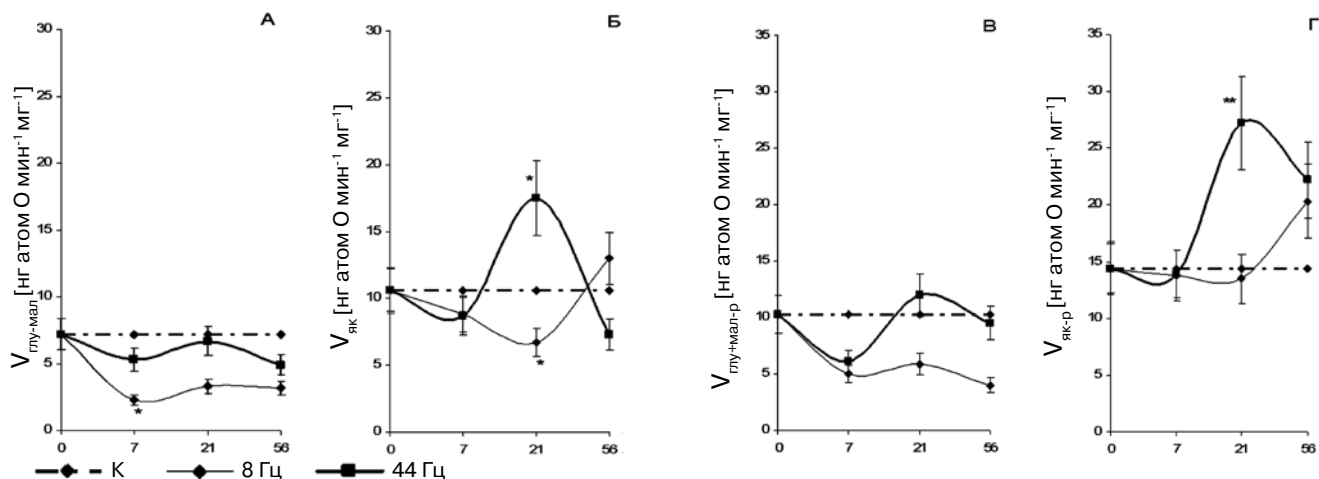


Рисунок 4. Влияние частоты и длительности вибрации на окисление НАД-зависимых субстратов (А, В) и ФАД-зависимых (Б, Г) в состоянии «покоя» и активности митохондрий печени в нг-атом О мин⁻¹ мг⁻¹ белка на фоне вибрации 8 и 44 Гц длительностью 7, 21, 56 сеансов относительно показателей группы контроля (К). Звездочками обозначены статистически значимые различия между группами контрольных и подвергнутых вибрации животных. * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$

для синтеза АТФ. Энергезирующее действие экзогенных субстратов создает «мягкие» условия инкубации гомогената. Отсутствие стимуляции указывает на регуляторное угнетение или отключение, а возможно, на повреждение соответствующего звена ДЦ [25].

Протонофор 2,4-ДНФ, ликвидирует электрохимический потенциал мембраны [60], что нарушает синтез АТФ и его регулирующее влияние в пунктах сопряжения дыхания с фосфорилированием. Вследствие этого скорость окисления субстратов ($V_{\text{як-р}}$, $V_{\text{глу+мал-р}}$) возрастает. Протонофор одинаково разобщает все точки сопряжения в ДЦ, увеличивает уровень АДФ, снижает содержание АТФ за счет активизации АТФ-азы. При этом *in vitro* создается высокая функциональная нагрузка на ДЦ, и мы говорим об «активном» состоянии митохондрий [25, 44]. Степень сопряжения окисления и фосфорилирования препарата митохондрий пропорциональна ответной реакции (величине ускорения дыхания) на разобщитель, что позволяет косвенно оценить уровень энергетической регуляции при функционировании данного участка ДЦ [32].

Окисление экзогенных НАД-зависимых субстратов в состоянии «покоя» угнетаются как при низко — так и высокочастотной вибрации (рис. 4 А). Скорость окисления экзогенной янтарной кислоты возрастает

на 44% ($p < 0,05$) после 21 сеанса вибрации 44 Гц. Однако более продолжительная (56 сеансов) высокочастотная вибрация вызывает угнетающий эффект на данный кинетический параметр (рис. 4 Б).

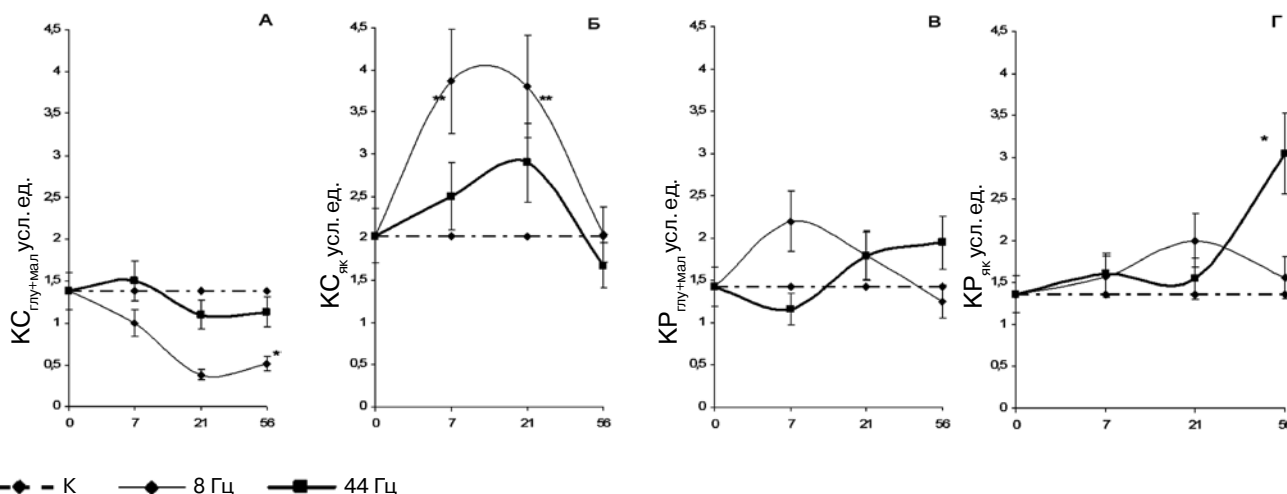
После 7 и 21 сеанса вибрации 8 Гц показатель $V_{\text{як-р}}$, не отклонявшийся от интактного контроля, начинает увеличиваться к завершению вибрационного воздействия (рис. 4 Г). Темпы окисления янтарной кислоты на фоне вибрации 44 Гц в состоянии активности превосходят темпы окисления данного субстрата на фоне вибрации 8 Гц в два раза ($p < 0,01$) после 21 сеанса вибрации. Однако к 56 сеансу вибрации 44 Гц показатель $V_{\text{як-р}}$ начинает снижаться, свидетельствуя о том, что гиперактивность сукцинатзависимой биоэнергетики привела к феномену «разрыхления» ДЦ [26, 27], нарушению ее электрон-транспортной функции и началу II фазы биоэнергетической гипоксии [33, 35].

Динамика соотношений парциальных реакций эндогенного дыхания, характеризующих изменчивость основных потоков электронов при окислении ФАД- и НАД-зависимых субстратов в ферментных комплексах соответствующих фракций ДЦ, как отклик на воздействие неблагоприятного фактора, отражена в таблице 3.

Таблица 3. Влияние различных режимов вибрации на соотношение активности ФАД- и НАД-зависимых оксидаз митохондрий печени кроликов

Факторы вибрации и их уровни		n	Отношение активности ФАД- и НАД-зависимых оксидаз митохондрий печени в разных метаболических состояниях		
Частота Гц	Общее количество ежедневных сеансов вибрации		КПэ	КПп	КПр
0	0	20	1,42	1,47	1,39
8	7	10	0,86	3,82	2,76
8	21	10	0,76	2,03	2,3
8	56	10	0,77	4,1	5,0
44	7	10	1,7	1,64	2,27
44	21	10	1,7	2,61	2,26
44	56	10	0,87	1,5	2,33

Показатели КПэ, КПп, КПр даны в относительных единицах измерения



■ Рисунок 5. Влияние частоты и длительности вибрации на коэффициент стимуляции (КС в усл. ед) НАД-зависимого (А) и ФАД-зависимого (Б) и коэффициент регуляции (КР в усл. ед) НАД-зависимого (В) и ФАД-зависимого звена (Г) дыхательной цепи митохондрий печени. Звездочками обозначены статистически значимые различия между группами контрольных и подвергнутых вибрации животных. * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$

Известно, что добавление экзогенного субстрата к тканевому препарату в состоянии эндогенного дыхания оказывает активизирующее воздействие, если ДЦ работает в оптимальном режиме. Количественной мерой «энергизации» в нашем исследовании стал коэффициент стимуляции дыхания (КС_{глу+мал}, КС_{як}). Подобно этому, стимуляция субстратного дыхания разобщителем окислительного фосфорилирования протонифором 2,4-динитрофенолом косвенно отражает уровень сопряженности окисления и фосфорилирования в ДЦ и эффективность ее работы (КР_{глу+мал}, КР_{як}).

Коэффициенты КС_{глу+мал} и КР_{глу+мал} в ответ на вибрационное воздействие угнетаются (рис. 5 А, В). Исчезает стимулирующее действие разобщителя (КР_{глу+мал} → 1,0). После завершения 56 сеансов вибрации 8 Гц коэффициент КР_{глу+мал} < 1,0, что свидетельствует о нарушении энергетической регуляции процессов окисления и фосфорилирования в зоне основного НАД-зависимого пути ДЦ, свидетельствуя о снижении его активности и уменьшении вклада в энергообеспечение. Это, вероятно, происходит вследствие «разрыхления» структурно-функциональной организации ДЦ на данном участке и нарушения процессов переноса электронов. Следствием этого является нарушение трансформации энергии в различные формы (АТФ, ГТФ, Δμ Н, Δμ ψ и др.) [56, 60] и развитие низкоэнергетического сдвига [26, 39, 44] или биоэнергетической гипоксии [33].

О компенсаторном включении системы окисления янтарной кислоты свидетельствует динамика КС_{як} и КР_{як} (рис. 5 Б, Г). После 7 сеансов вибрации 8 Гц подъем КС_{як} составил 88% ($p < 0,01$), сохранился до 21 сеанса и вернулся к показателям контроля. Коэффициент КР_{як} на фоне низкочастотной вибрации претерпел подъем на 14% к 21 сеансу, а затем также вернулся к показателю контроля, вероятно, свидетельствуя о регуляторном ограничении активности ФАД-зависимого звена ДЦ.

Динамика КС_{як} на фоне вибрации 44 Гц была менее выраженной, подъем ограничился 40% к 21 сеансу; через 56 сеансов данный показатель стал ниже контроля на 18%. Коэффициент КР_{як} постепенно возрастал и к 56 сеансу превосходил уровень контроля более чем в 2 раза ($p < 0,01$), подчеркивая диссонанс между показателями переходных состояний и выявляя тенденции к гиперактивации системы окисления янтарной кислоты с признаками «истощения» и последующим развитием низкоэнергетического сдвига [25]. Известно, что низкоэнергетический сдвиг, являясь компонентом неспецифической ответной реакции ткани на неблагоприятное внешнее воздействие, служит мерой для оценки нарушения ее функций [25, 27, 39].

Итак, ДЦ откликается на изменение режима вибрационного воздействия перестройкой окислительного метаболизма. С увеличением частоты и длительности общей вибрации вклад активности НАД-зависимого фермент-субстратного комплекса ДЦ снижался, что согласуется с представлениями о его большей уязвимости [33, 35]. Активность ФАД-зависимого звена повышалась, свидетельствуя о его ведущей роли в поддержании функции ДЦ в неблагоприятных условиях вибрационного стресса и гипоксии [26, 28, 37, 38]. Однако гиперактивация системы окисления янтарной кислоты свидетельствует о начале формирования низкоэнергетического сдвига в системе энергообеспечения ткани печени [26, 44]. Следовательно, анализ кинетических и регуляторных параметров свидетельствует о развитии I–II фазы биоэнергетической гипоксии [33], аналогично тому, что было доказано в эксперименте для других органов (сердце) [5, 7, 9, 13, 78].

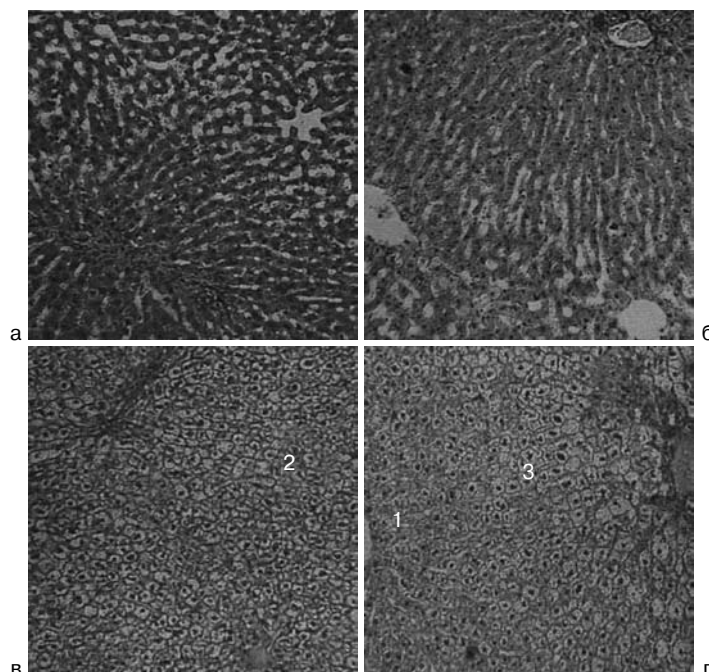
Архитектоника ткани печени также изменялась под воздействием вибрации, подобно другим тканям [10]. Морфогистологически гепатоциты ин-

тактных кроликов были кубической формы, хорошо прокрашивались (рис. 6 а). Цитоплазма имела равномерную эозинофильную окраску, ядра — базофильную. Клетки собирались в печеночные балки, радиально располагающиеся от портального тракта к центральной вене. Балочность строения гепатоцитов в перипортальной области имела сотовое строение. Синусоиды были расширены, в просвете хорошо просматривались эритроциты, портальные тракты также были широкими. При низкочастотной (8 Гц) вибрации морфогистологические перестройки в печени были минимальными, не определялось значительных различий между препаратами в зависимости от длительности вибрации.

В условиях высокочастотной вибрации (44 Гц) выраженность патологических изменений гепатоцитов зависела от количества сеансов, что свидетельствовало о суммации повреждающих эффектов. Через 7 сеансов вибрации 44 Гц (рис. 6 б) синусоидная структура с балочным строением дольки сохранялась, но часть гепатоцитов уплотщалась, часть набухала с явлениями вакуолизации. Процесс усиливался по направлению к перипортальной зоне. Интенсивность окраски клеток ослабевала и приобретала мелкозернистый характер. Ядра набухали, умеренно нарастали признаки гипертрофии клеток. Через 21 сеанс (рис. 6 в) наблюдалось полное нарушение синусоидной структуры по направлению к перипортальной зоне, деструкции печеночных балок, спадание синусоидов, развитие очагов некроза. Эозинофильность цитоплазмы клеток значительно сокращалась, у большинства клеток она становилась прозрач-

ной с мелкой и редкой зернистостью и признаками вакуолизации. Процесс носил более выраженный характер в перипортальных отделах. В перипортальных зонах тинкториальные свойства цитоплазмы гепатоцитов (эозинофилия) частично сохранялись. Усиливалась гетерогенность гепатоцитов по форме и размерам: большинство клеток были набухшими с пикнотичными ядрами, встречались пустотелые гепатоциты. Через 56 сеансов (рис. 6 г) отмечали тенденцию к изменению морфологической характеристики печени по компенсаторному типу, что соответствует литературным данным [53]. Интенсивность окрашивания увеличивалась, повышалась зернистость цитоплазмы и базофильность окраски ядер. Увеличивалось количество двуядерных гепатоцитов. На отдельных участках ткани появлялись признаки балочного строения и просветы синусоидов. Гетерогенность гепатоцитов по форме и размерам нарастала в перипортальном отделе. Отмечалось полнокровие портальной вены и набухание артерий.

В целом под влиянием вибрации с частотой 44 Гц морфогистологическая характеристика печени изменялась в направлении развития персистирующего гепатита в две фазы: с усилением патологического процесса в период с 7-го по 21-й сеанс и появлением признаков компенсации с частичным восстановлением балочной структуры долек — к 56 сеансу. Морфогистологические изменения, обусловленные усилением режимов общей вибрации, подтвердили ее дизрегулирующий и даже повреждающий характер [23, 71, 74] и соотносятся с изменениями биоэнергетических показателей ткани.



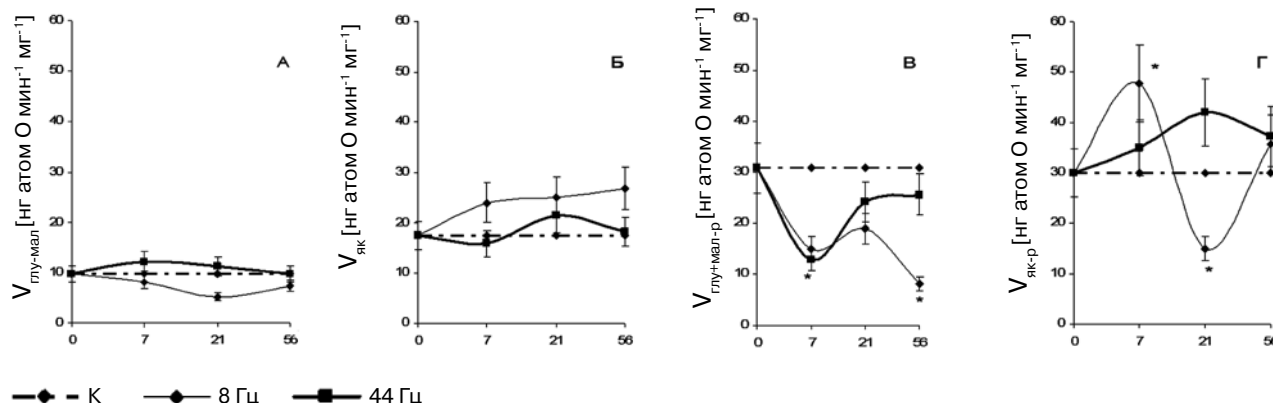
■ Рисунок 6. Влияние пролонгированной высокочастотной (44 Гц) общей вибрации на морфогистологическую характеристику печени кроликов: а) — интактное животное; б) — 7 сеансов вибрации; в) — 21 сеанс вибрации; г) — 56 сеансов вибрации. Цифрами обозначены: 1 — синусоиды с балочным строением, 2 — зональный некроз, 3 — двуядерные гепатоциты. Окраска гематоксилин-эозином, увеличение $\times 180$

ВЛИЯНИЕ ОБЩЕЙ ВИБРАЦИИ НА ФУНКЦИИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ ПОЧКИ И МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ СТРУКТУРУ ТКАНИ

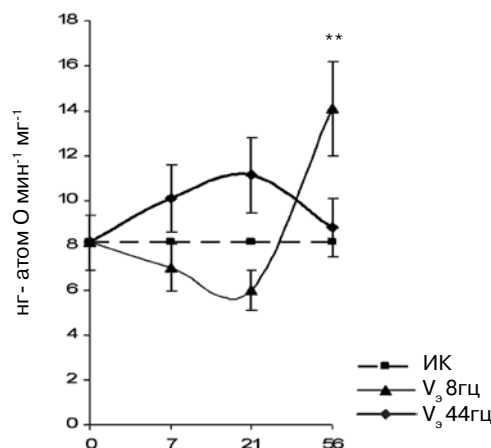
У интактных животных интенсивность окисления эндогенных субстратов митохондрий определяется тканевой принадлежностью. Эндогенное дыхание в почке оказалось на 60% больше, чем в митохондриях ткани печени, что соответствует литературным данным [39, 40]. В процессе кумуляции эффектов вибрации при варьировании частоты и длительности проявлялись разнонаправленные сдвиги (рис. 7). Через 21 сеанс вибрации 8 Гц наблюдалось снижение скорости на 27%, но к завершению воздействия показатель резко увеличивался на 73% ($p < 0,01$) по отношению к контролю. Динамика скорости эндогенного дыхания при высокочастотной вибрации имела противоположную направленность: через 7 сеансов наблюдали ускорение окисления эндогенных субстратов на 24%, через 21 сеанс — на 40%, к завершению вибрации показатель возвращался к уровню интактного контроля, свидетельствуя о сохранности резерва эндогенных энергетических субстратов.

Ингибиторный анализ показал, что на фоне вибрации 8 Гц прирост малонатчувствительности составил 20% через 7 сеансов вибрации, а затем плавно снизился к показателю интактного контроля. Высокочастотная вибрация в те же сроки вызвала подъем на 40% ($p < 0,05$) с последующим уменьшением ниже уровня контроля, свидетельствуя о начале угнетения сукцинатзависимой биоэнергетики [25–29, 33, 37]. Как при 8 Гц, так и при 44 Гц темпы приращения чувствительности к малонату превышали темпы усиления чувствительности к амиталу.

Окисление экзогенных НАД-зависимых субстратов угнетаются как при низко- так и высокочастотной вибрации (рис. 8 А). По мере пролонгации вибрации 8 Гц в митохондриях почки наблюдали монотонное торможение дыхания под действием глу+мал ($V_{\text{глу+мал}}$). Высокочастотная вибрация не вызвала достоверных изменений данного показателя.



■ Рисунок 8. Влияние частоты и длительности вибрации на окисление НАД-зависимых (А, В) и ФАД-зависимых субстратов (Б, Г) в нг- атом О мин⁻¹ мг⁻¹ белка в состоянии «покоя» и активности на фоне вибрации 8 и 44 Гц длительностью 7, 21, 56 сеансов относительно показателей группы контроля (К). Звездочками обозначены статистически значимые различия между группами контрольных и подвергнутых вибрации животных * — $p < 0,05$



■ Рисунок 7. Изменение скорости эндогенного дыхания нативных митохондрий почки кролика в нг- атом О мин⁻¹ мг⁻¹ белка на фоне вибрации 8 и 44 Гц длительностью 7, 21, 56 сеансов относительно показателей группы интактного контроля (ИК). Звездочками обозначены статистически значимые различия между группами интактных и подвергнутых вибрации животных ** — $p < 0,01$

Скорость окисления экзогенной янтарной кислоты возрастала на 40% после 56 сеансов вибрации 8 Гц. Стимулирующее действие экзогенной янтарной кислоты на дыхание митохондрий при воздействии вибрации 44 Гц ($V_{\text{як}}$) практически отсутствовало (рис. 8 Б), тогда как при работе ДЦ в оптимальном режиме добавка экзогенного субстрата к тканевому препарату в состоянии эндогенного дыхания должна оказывать активизирующее воздействие.

В условиях «активности» митохондрий (АТФ-азная нагрузка) почки $V_{\text{глу+мал-р}}$ снижался на 40–74% ($p < 0,05$) через 7–56 сеансов соответственно на фоне вибрации 8 Гц (рис. 8 В); депрессия показателя на фоне вибрации 44 Гц колебалась на уровне 59–22–17% в сроки 7–21–56 сеансов соответственно. Подобная динамика свидетельствует об угнетении окисления НАД-зависимых субстратов в разобращенном состоянии митохондрий.

■ Таблица 4. Влияние различных режимов вибрации на соотношение активности ФАД- и НАД-зависимых оксидаз митохондрий почки кроликов

Факторы вибрации и их уровни		n	Отношение активности ФАД- и НАД-зависимых оксидаз митохондрий печени в разных метаболических состояниях		
Частота, Гц	Общее количество ежедневных сеансов вибрации		КПэ	КПп	КПр
0	0	20	1,17	1,8	0,97
8	7	10	1,33	2,9	3,18
8	21	10	1,12	4,8	1,1
8	56	10	0,87	3,62	4,42
44	7	10	1,53	1,3	2,73
44	21	10	1,1	1,9	1,73
44	56	10	0,91	1,87	1,45

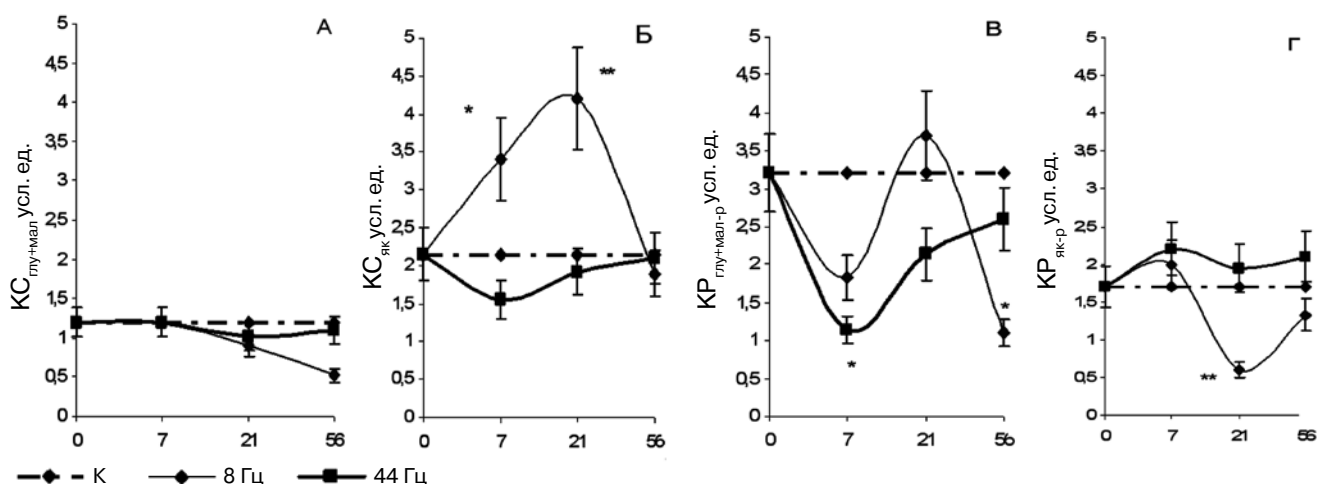
Показатели КПэ, КПп, КПр даны в относительных единицах измерения

В активном состоянии митохондрии почки окисляли экзогенную янтарную кислоту интенсивней, чем НАД-зависимые субстраты (рис. 8 Г). На фоне вибрации наблюдались разнонаправленные высокоамплитудные колебания показателя $V_{\text{як-р}}$, в диапазоне 50–60% после 7 и 21 сеанса и возвращение к показателям интактного контроля к 56 сеансу вибрации. При 44 Гц наблюдался подъем $V_{\text{як-р}}$ на 40% относительно интактного контроля и сохраняющийся к завершению вибрационного воздействия. Таким образом, темпы окисления янтарной кислоты в состоянии «покоя» и «активности» превосходили скорости окисления НАД-зависимых субстратов. Это свидетельствовало об активации сукцинатзависимой энергопродукции тканью почки в процессе суммации эффектов пролонгированной вибрации. Соотношение активности ФАД- и НАД-З оксидаз митохондрий почки иллюстрирует это утверждение (табл. 4).

По мере пролонгации вибрации 8 Гц наблюдали монотонное торможение дыхания под действием композиции субстратов (глу+мал) к 56 сеансу, коэффициент $КС_{\text{глу+мал}} < 1,0$. На фоне вибрации 44 Гц также отсутствовало активизирующее воздействие экзогенных НАД-зависимых субстратов, что свидетельствует о нарушениях в зоне первого фермент-субстратного комплекса ДЦ почки (рис. 9 А).

Напротив, стимуляция дыхания в системе окисления ЯК (рис. 9 Б) более выражена и аналогична той картине, которая описана для печени. В частности: на фоне вибрации 8 Гц отмечается выраженное увеличение $КС_{\text{як}}$ на 58–95% через 7 и 21 сеанс соответственно ($p < 0,01$). Однако воздействие высокочастотной вибрации лишает экзогенную янтарную кислоту стимулирующего действия на II фермент-субстратный комплекс, что свидетельствует о накоплении повреждающих эффектов со стороны вибрации в зоне ФАД-зависимого звена ДЦ.

Показатель $КР_{\text{глу+мал-р}}$ колеблется в широком диапазоне (рис. 9 В). В частности, после 56 сеансов вибрации 8 Гц он достигает значения близкого к 1,0. Это свидетельствует об отсутствии стимулирующего действия 2,4-ДНФ и коррелирует с утратой сопряженности между окислением и фосфорилированием и, следовательно, с уровнем энергетической регуляции дыхания в зоне НАД-зависимого звена ДЦ. Картина глубоких изменений усугубляется тем фактом, что стехеометрически на НАД-зависимом участке ДЦ митохондрий в физиологических условиях функционируют 3–4 пункта сопряжения и теоретически эффективность окислительного фосфорилирования в 1,5–2 раза выше, чем на ФАД-зависимом участке



■ Рисунок 9. Влияние частоты и длительности вибрации на $КС$ (усл.ед) НАД-зависимого (А) и ФАД-зависимого звена (Б) и $КР$ (усл.ед) НАД-зависимого (В) и ФАД-зависимого звена (Г) дыхательной цепи митохондрий почки. Звездочками обозначены статистически значимые различия между группами контрольных и подвергнутых вибрации животных * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$

[44, 60]. Снижение энергетической регуляции так же ярко выражено на фоне воздействия вибрации 44 Гц. Коэффициент $KP_{\text{глю+мал-р}}$ остается ниже уровня контроля на 66–20% ($p < 0,05$).

При окислении янтарной кислоты в митохондриях почки стимулирующее действие 2,4-ДНФ проявилось неоднозначно. После 7 сеансов низкочастотной вибрации уровень энергетической регуляции повышался к 7 сеансу на 17%, к 21 — снижался на 65% ($p < 0,01$), достигая значения $KC_{\text{як-р}} < 1,0$, а затем возвращаясь к уровню контроля. На фоне вибрации 44 Гц $KC_{\text{як-р}}$ монотонно и недостоверно превосходил показатель интактного контроля на 14–30%.

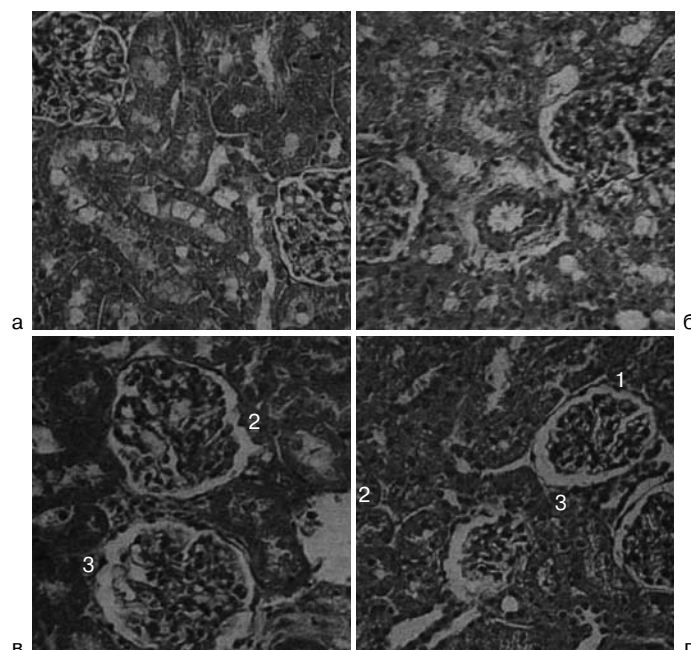
Таким образом, ДЦ почки откликается на изменения режимов вибрации перестройками окислительного метаболизма. Развивается митохондриальная дисфункция по типу биоэнергетической гипоксии I–II стадии.

Архитектоника ткани почки у интактных животных (рис. 10 а) соответствовала типичной гистологической картине [17]. Клубочки имели округлый или овальный вид с эндотелиальными, мезангиальными клетками и подоцитами. Просвет капсулы Боумена–Шумлянского был свободным и равномерным, нефротелий — уплощенным, распределение петель капилляров по клубочку — однородным. Эпителий извитых канальцев имел кубический тип строения, цитоплазма прокрашивалась эозином. Внутренний просвет канальцев составлял примерно 1/3 от всего диаметра.

В условиях вибрации 8 Гц изменения морфогистологической характеристики почек были незначительными и укладывались в диапазон визуально фиксируемой стандартной гетерогенности структур, присущей почкам интактных животных. В условиях высокочастотной

стотной общей вибрации, напротив, существенные изменения морфогистологической картины коркового слоя наблюдались уже через 7 сеансов (рис. 10 б). Клубочки увеличивались в размерах и приобретали неправильную форму. Просвет капсулы Боумена–Шумлянского неравномерно увеличивался, клеточное соотношение в клубочке изменялось. Клетки становились более округлой формы с плотным хроматином. Нефротелий утолщался. Сокращалась численность клеток эндотелиального типа и подоцитов. Возрастало полнокровие клубочков, в некоторых из них наблюдался диапедез эритроцитов в просвет капсулы Боумена–Шумлянского. Проявлялись элементы набухания интерстиция. В эпителии извитых канальцев отмечались признаки дистрофических изменений, в просветах появлялись эозинофильные гранулы и хлопья белка. Эпителий собирательных трубочек не изменялся. Усиление полнокровия в интерстиции мозгового слоя приобретало зональный характер.

После 21 сеанса вибрации (рис. 10 в) клубочки были гетерогенными по форме и размерам. Появлялись очаги «западания», что придавало некоторым клубочкам «лапчатый» вид. Просвет капсулы Боумена–Шумлянского увеличивался, нефротелий утолщался. Гетерогенность клеточного состава в клубочках усиливалась. В одних клубочках с повышенной плотностью возрастало количество эндотелиальных, мезангиальных и лимфоцитоподобных клеток, уменьшалось количество подоцитов. Просматривалась гиперхромность ядер. В других клубочках, напротив, количество клеток уменьшалось, но среди сохранившихся мезангиальных и появившихся лимфоцитоподобных клеток также отмечалась гиперхромность ядер. Возрастало полнокровие клубочков, усилива-



■ Рисунок 10. Влияние пролонгированной высокочастотной (44 Гц) общей вибрации на морфогистологическую характеристику коркового слоя почки кроликов: а) интактное животное; б) 7 сеансов вибрации; в) 21 сеанс вибрации; г) 56 сеансов вибрации. Цифрами обозначены: 1 — «лапчатость клубочка», 2 — отек интерстиция, 3 — утолщение нефротелия. Окраска гематоксилин-эозином, увеличение $\times 320$

лось набухание и отечность интерстиция. По всем петлям капилляров много эритроцитов. Эпителий извитых канальцев и собирательных трубочек набухал, просвет канальцев уменьшался, обнаруживались хлопья белка. Наблюдалось полнокровие интерстициальных пространств, появлялись зоны кровоизлияний.

После 56 сеансов общей вибрации (рис. 10 г) гетерогенность клубочков по форме и размерам приобретала генерализованный характер, большинство из них имело «лапчатый» вид. Просвет капсул Боумена–Шумлянского оставался широким, нефротелий утолщенным. Проявлялись отчетливо подоциты, мезангиальные клетки. Сокращалось содержание лимфоцитоподобных и плохо дифференцируемых клеток. В набухом эпителии извитых канальцев отмечались явления распада апикального конца. В корковом слое нарастал интерстициальный отек, наблюдались кровоизлияния. Просветы канальцев сокращались, в них отмечались хлопья и нити белка.

Таким образом, усиление интенсивности вибрационного воздействия сопровождалось нарастанием изменений морфогистологической характеристики коркового слоя почки, который, является наиболее активным потребителем энергетических ресурсов. Со стороны клубочкового аппарата развивалась гломеруллопатия экссудативного интра- и экстракапиллярного типа. Увеличение степени полнокровия капилляров клубочков сочеталось с неравномерным оскудением их клеточного состава. Эпителий извитых канальцев набухал, их просвет сокращался, в нем появлялись хлопья и нити белка, нарастали явления интерстициального отека коркового слоя и появлялись кровоизлияния.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дальнейшее изучение патогенеза одной из основных нозологических форм в структуре профессиональной патологии — вибрационной болезни [22] обусловлено большой медико-социальной значимостью вибрационно-опосредованных осложнений [46, 49, 51, 61, 72]. Известно, что при вибрационной болезни системные микроангиопатии и капиллярно-трофическая недостаточность посредством гипоксии и гипоксемии реализуют структурно-морфологические и метаболические изменения, завершающиеся дистрофией органов и тканей [50, 59]. Это приводит к тому, что у лиц, профессионально контактирующих с вибрацией, частота сердечно-сосудистой, желудочно-кишечной и почечной патологии значительно выше, чем в среднем по популяции [20, 36, 50, 52, 77].

Проведенные исследования показали, что на уровне митохондрий печени и почки процессы энергетической регуляции дыхания, моделируемые *in vitro* в неполном цикле метаболических градаций «покой-разобщение» [63] по мере пролонгации вибрации перестраиваются и/или нарушаются для

обеспечения гомеостатических функций на новом для организма уровне [29, 37, 47, 48]. Функциональная перестройка в ДЦ митохондрий печени и почки, адекватно отражая неблагоприятный характер внешнего воздействия, в наших исследованиях не проявила каких-либо специфических особенностей, связанных с причинным фактором (вибрация) и соответствует аналогичной картине «смены метаболических путей» на фоне целого ряда других видов неблагоприятных воздействий [3, 18, 21, 33, 35, 37, 38].

Перестройки функциональной активности систем энергопродукции тканей включали этапы регуляторных переключений, касающихся интенсивности и эффективности окисления и синтеза макроэргов в митохондриях паренхиматозных органов, вовлеченных в процесс приспособления к длительной вибрации. Адаптивные перестройки заключались в компенсаторном изменении активности и энергетической регуляции окисления эндогенных и экзогенных ФАД- и НАД-зависимых субстратов.

Нами обнаружено, что по мере снижения активности НАД-зависимого звена ДЦ постепенно включаются амиталрезистентные метаболические потоки, выполняющие компенсаторную роль в условиях гипоксии и способствующие сохранению синтеза АТФ на цитохромном участке ДЦ [33, 35]. При пролонгации вибрационного воздействия ткань вступает в I фазу биоэнергетической гипоксии [33]. Изменения, характерные для этой фазы, начинаются на субстратном участке ДЦ, в области железо-серных центров I фермент-субстратного комплекса (NADH: убухинон-оксидоредуктаза) [32, 60]. Гипоксическое снижение парциального давления кислорода (результат начальной активации окислительного фосфорилирования) сопровождается полным восстановлением пиридиннуклеотидов (НАД Н и НАДФ) и подавлением переноса электронов на участке НАД Н–CoQ. В результате этого падает интенсивность окисления НАД Н-зависимых субстратов, окислительного фосфорилирования, снижается чувствительность к специфическим ингибиторам НАД Н-оксидазного участка ДЦ [43]. Подавление работы малат-аспартатного шунта, дефицит альфа-кетоглутарата и аспартата способствуют реализации молекулярных механизмов адаптации клетки к стрессу через специфический белковый фактор, индуцируемый при гипоксии HIF-1 (Hypoxia Inducible Factor) [75, 76]. Фактор HIF-1 α , идентифицированный в сердце, печени, почке, транлоцируется в ядро и начинается экспрессия широкого спектра HIF-1 зависимых генов-мишеней и синтез защитных адаптивных белков [14, 16, 54, 62].

В условиях гипоксии ингибируется НАД·Н-оксидазное звено ДЦ, однако флавопротеиды (ФАД Н) и цитохромный участок сохраняют окисленность и способны работать при потенциале полувосстановления субстратных пар близком к 0V [14, 32, 60], что обеспечивает преимущественный метаболизм эндогенной янтарной кислоты. При этом цикл трикарбон-

вых кислот функционирует в усеченной форме с шунтированием его наиболее медленных участков [27].

Известно, что эндогенная янтарная кислота помимо участия в электронтранспортной функции митохондрий ДЦ, является лигандом G-белок-сопряженных рецепторов (G-protein coupled receptor — GPCR), GPR91 [34, 64, 68]. Данный субстрат, обеспечивая активность ФАД-зависимого звена ДЦ и экспрессию HIF-1 α , поддерживает метаболический и энергетический гомеостаз. Зависимые HIF-1 гены-мишени способствуют доставке кислорода через механизмы усиления транспорта глюкозы, продукции АТФ, ионного транспорта, клеточной пролиферации, активизацию эритропоэза и ангиогенеза [16, 54]. В совокупности вышеперечисленные механизмы создают новое стационарное состояние энергетического обмена в условиях стресса. Это состояние характеризует доминирование ФАД-оксидазного перед НАД-оксидажным путем окисления, что нашло подтверждение в нашем исследовании применительно к биоэнергетике печени и почки. Показатели низкой сопряженности окислительного фосфорилирования в тканях свидетельствуют о начале перехода систем энергообеспечения во II стадию биоэнергетической гипоксии [33].

Генерализованные нарушения в сопрягающих системах ФАД- и НАД-зависимого участков ДЦ митохондрий исследованных органов указывает на формирование низкоэнергетического сдвига в энергообеспечении печени и почки. Очевидно, что вследствие митохондриальной дисфункции нарушается работа насосов (Na⁺/K⁺ — АТФ-азы), ионных обменников (Na⁺/H⁺, Cl⁻/HCO₃⁻, OH⁻/Cl⁻) и котранспортеров (Na⁺/HCO₃⁻ и K⁺/Cl⁻) в гепатоцитах [1, 2, 42]. Неблагоприятные биоэнергетические эффекты вибрации явились причиной морфологических изменений: нарастания дистрофии тканей, уменьшения капиллярной сети, спазма артериол, увеличению межклеточного отека, постепенному расширению очагов кровоизлияний и некроза.

Сумма последствий неблагоприятных воздействий на уровне митохондрий [21, 24, 26, 37, 38, 55], обусловила целесообразность использования этих органелл в качестве мишени для фармакологического воздействия. Существование сопряженности в работе ДЦ и транскрипционной экспрессии индуцируемых гипоксией генов в условиях гипоксии ведет к тому, что в присутствии янтарной кислоты восстанавливается индукция HIF-1 альфа и экспрессия генов-мишеней [62]. Очевидно, что в условиях гипоксии любого генеза для реализации всего комплекса адаптивных реакций необходимо, прежде всего, поддержание сукцинатоксидазного окисления [3, 6, 8, 10, 13, 35, 38].

Доказано, что фармакологическая регуляция энергетического обмена способствует эффективной коррекции патологических состояний, сопряженных с гипоксией [18, 35, 64, 73]. Активизация G-сукцинат сопряженных рецепторов (GPR91), происходящая при

увеличении уровня янтарной кислоты в крови, способна поддержать метаболический гомеостаз благодаря регулирующему действию на сукцинатдегидрогеназу [6, 8]. Использование данного участка ДЦ в качестве мишени для фармакологической коррекции стрессовых нарушений благотворно скажется на окислительной и сохранении сопрягающей активности НАД-зависимого участка ДЦ митохондрий.

Очевидно, что с позиций биоэнергетической фармакологии целесообразно для лечения и профилактики вибрационно-обусловленной патологии использование препаратов, содержащих митохондриальные субстраты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агарков А. А., Попова Т. Н., Семенихина А. В. Каталитические свойства глутатионредуктазы из печени крысы в норме и при токсическом гепатите // Биомед. химия. — 2009. — Т. 55, № 2. — С. 169–176.
2. Аколова О. В., Носарь В. И., Бурый В. А., Маньковская И. Н., Сагач В. Ф. Влияние активатора АТФ-зависимого K⁺-канала на потребление кислорода и K⁺-цикл в митохондриях печени крыс // Биохимия. — 2010. — Т. 75, вып. 9. — С. 1273–1283.
3. Васин М. В., Королева Л. В. Характеристика реакции сукцинатоксидазной системы клеточек при воздействии на организм экстремальных факторов // Клинические и патогенетические проблемы нарушений клеточной энергетики (митохондриальная патология): сб. науч. ст. Всерос. конф. с междунар. участием. — Москва, 1999. — С. 19–20.
4. Волчегорский И. А., Долгушин И. И., Колесников О. А., Цейликман В. Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. — Челябинск, 2000. — С. 40–60.
5. Воробьева В. В. Активность систем энергопродукции миокарда при воздействии общей вибрации в эксперименте // Пермский мед. журнал. — 2006. — Т. 23, № 3. — С. 6–13.
6. Воробьева В. В. Эффективность препаратов, содержащих митохондриальные субстраты, при коррекции вибрационно-опосредованного нарушения энергетического обмена в кардиомиоцитах: Автореф. Дис... канд. мед. наук. — Саранск, 2006. — 22 с.
7. Воробьева В. В., Шабанов П. Д. Функциональная активность системы энергопродукции миокарда кролика при воздействии общей вибрации // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. — 2009. — Т. 95, № 1. — С. 19–26.
8. Воробьева В. В., Шабанов П. Д. Экзогенная янтарная кислота уменьшает вибрационно-опосредованные нарушения энергетического обмена в кардиомиоцитах кролика // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. — 2009. — Т. 95, № 8. — С. 857–864.
9. Воробьева В. В., Шабанов П. Д. Вибрационная модель гипоксического типа клеточного метаболизма, оцененная на кардиомиоцитах кролика // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2009. — Т. 147, № 6. — С. 712–715.
10. Воробьева В. В., Шабанов П. Д. Морфофункциональные изменения миокарда кролика при воздействии общей вибрации и после фармакологической защиты янтарной кислотой // Вестник СПбГУ, сер.11. — 2010. — № 3. — С. 201–207.
11. Воробьева В. В., Шабанов П. Д. Изучение механизма кардиопротективного эффекта нифедипина при воздействии вибрации у кроликов // Эксперим. и клин. фармакология. — 2010. — Т. 73, № 6. — С. 5–9.
12. Воробьева В. В., Шабанов П. Д. Блокаторы медленных кальциевых каналов L-типа поддерживают энергетиче-

- ский обмен в кардиомиоцитах кролика при воздействии общей вибрации // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. — 2010. — Т. 96, № 6. — С. 573–581.
13. Воробьева В. В., Шабанов П. Д. Биоэнергетические феномены при стрессирующем воздействии локальной вибрации и защитном действии янтарной кислоты // Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезвычай. ситуациях. — 2010. — № 4, часть 1. — С. 87–92.
 14. Геннис Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функции / Пер. с англ. — М.: Мир, 1997. — 624 с.
 15. Гоголева О. И. Вибрационная болезнь у рабочих угольных шахт (клинико-гомеостатические и терапевтические аспекты): Автореф. Дис... д-ра мед. наук. — Пермь, 2000. — 40 с.
 16. Григорьев А. И., Тоневицкий А. Г. Молекулярные механизмы адаптации к стрессу: гены раннего ответа // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. — 2009. — Т. 95, № 10. — С. 1041–1057.
 17. Зайцев В. Б., Крылов П. А., Резцов О. В., Коледаева Е. В. Мочеполовая система с основами эмбриологии: уч. пос. для студентов мед. вузов. — Киров, 2006. — 144 с.
 18. Зарубина И. В., Шабанов П. Д. Молекулярная фармакология антигипоксантов. — СПб.: Н-Л, 2004. — 368 с.
 19. Захарченко М. В., Хундерякова Н. В., Кондрашова М. Н. Важность сохранения биофизической организации выделенных митохондрий для выявления физиологической регуляции их функции // Биофизика. — 2011. — Т. 56, № 5. — С. 840–847.
 20. Зуева М. А., Шпагина Л. А., Герасименко О. Н., Зюбина Л. Ю., Михно И. П. Гемодинамические и микроциркуляторные механизмы формирования поражения печени при вибрационной болезни // Мед. труда и пром. экология. — 2010. — № 8. — С. 14–19.
 21. Ивницкий Ю. Ю. Интенсивность клеточного дыхания и радиорезистентность организма: Автореф. дис... д-ра мед. наук. — СПб., 1994. — 22 с.
 22. Измеров Н. Ф. Роль профпатологии в системе медицины труда // Мед. труда и пром. экология. — 2008. — № 11. — С. 1–11.
 23. Кирьяков В. А., Павловская Н. А., Сухова А. В. Критерии выбора информативных лабораторных биомаркеров в медицине труда (анал. обзор лит-ры) // Мед. труда и пром. экология. — 2010. — № 12. — С. 22–27.
 24. Коваль А. Н., Грицук А. И., Свергун В. Т. Параметры тканевого дыхания миокарда белых крыс при продолжительной инкорпорации радиоцезия. Митохондрии в патологии: мат. Всерос. раб. сов. — Пушино, 2001. — С. 125–127.
 25. Кондрашова М. Н. Аппаратура и порядок работы при полярнографическом измерении дыхания митохондрий. Руководство по изучению биологического окисления полярнографическим методом. — М.: Наука, 1973. — С. 50–59.
 26. Кондрашова М. Н. Метаболические состояния митохондрий при разных физиологических состояниях организма. Молекулярные механизмы клеточного гомеостаза. — Новосибирск: Наука, 1987. — С. 140–153.
 27. Кондрашова М. Н. Структурно-кинетическая организация цикла трикарбоновых кислот при активном функционировании митохондрий // Биофизика. — 1989. — Т. 34, № 3. — С. 450–458.
 28. Кондрашова М. Н. Монополизация дыхательной цепи янтарной кислотой при гипоксии // Физиология и биоэнергетика гипоксии. — Минск, 1990. — С. 45–48.
 29. Кондрашова М. Н., Григоренко Е. В. Проявления стресса на уровне митохондрий // Журн. общей биологии. — 1985. — С. 516–526.
 30. Кондрашова М. Н., Сирота Т. В., Темнова А. В. и др. Обратимая организация митохондрий в ассоциаты как фактор регуляции дыхания // Биохимия. — 1997. — Т. 62, № 2. — С. 154–163.
 31. Костюк И. Ф., Капустник В. А. Роль внутриклеточного обмена кальция в развитии вазоспастических реакций при вибрационной болезни // Мед. труда и пром. экология. — 2004. — № 7. — С. 14–17.
 32. Ленинджер А. Л. Основы биохимии: пер. с англ. в 3-х т. Т. 2 — М.: Мир, 1985. — 320 с.
 33. Лукьянова Л. Д. Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты. — М.: Медицина, 2004. — 520 с.
 34. Лукьянова Л. Д. Сигнальная функция митохондрий при гипоксии и адаптации // Патогенез. — 2008. — Т. 6, № 3. — С. 4–12.
 35. Лукьянова Л. Д. Анализ действия энерготропной терапии митохондриальных дисфункций при патологиях, включающих в себя гипоксическую компоненту // Патогенез. — 2008. — Т. 6, № 3. — С. 40–41.
 36. Любченко П. Н., Новикова А. В., Карпов В. Н. и др. Результаты морфологического исследования слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки у больных вибрационной болезнью // Тер. архив. — 1998. — № 2. — С. 36–39.
 37. Маевский Е. И., Кондрашова М. Н. Сукцинатная фракция дыхания — наиболее чувствительная характеристика митохондрий при небольших изменениях физиологического состояния // Митохондриальные процессы во временной организации жизнедеятельности: сб. науч. ст. — Пушино, 1978. — С. 24–32.
 38. Маевский Е. И., Розенфельд А. С., Гришина Е. В., Кондрашова М. Н. Коррекция метаболического ацидоза путем поддержания функций митохондрий // Митохондрии в патологии. — Пушино, 2001.
 39. Мазина Н. К., Воробьева В. В., Заугольников В. С., Вознесенский Н. К. Влияние общей вибрации на функции дыхательной цепи печени кроликов // Вятский мед. вестник. — 2002. — № 1. — С. 45–49.
 40. Мазина Н. К., Кудрявцев В. В., Воробьева В. В. Влияние регуляторов энергетического обмена на окислительные процессы в почках при действии вибрации // Нефрология и диализ. — 2003. — Т. 5, № 3. — С. 257.
 41. Маслова Г. М., Мохова Е. Н. Обращение знака различий в энергетическом сопряжении в ответ на воздействии *in vivo* при вариации состава среды инкубации гомогената // Митохондрии. Биохим. функции в системе клеточных органелл. — М.: Наука, 1969. — С. 98–101.
 42. Мелких А. В., Сутормина М. И. Модель активного транспорта ионов в гепатоцитах // Биофизика. — 2010. — Т. 55, № 1. — С. 83–87.
 43. Мохова Е. Н., Хавкина И. В. Сравнение чувствительности к амиталу и к разобщителям дыхания кусочков печени на эндогенных субстратах, пирувате и НАДН // Регуляция процессов окисления и сопряжения. — М.: Наука, 1974. — С. 71–75.
 44. Никольс Д. Биоэнергетика. Введение в хемиосмотическую теорию. — М.: Мир, 1985. — 152 с.
 45. Пальцев М. А., Пономарев А. Б., Берестова А. В. Атлас по патологической анат. — М.: Медицина, 2003. — 432 с.
 46. Панков В. А. Вибрационная болезнь от локальной вибрации: Автореф. дис... д-ра мед. наук. — Ангарск, 2002. — 48 с.
 47. Панин Л. Е. Биохимические механизмы стресса. — Новосибирск: Наука, 1983. — 216 с.
 48. Панин Л. Е. Энергетические аспекты адаптации. — Л.: Медицина, 1978. — 192 с.
 49. Панков В. А., Дьякович М. П. Применение модельных исследований в задаче прогнозирования развития вибрационной болезни // Мед. труда и пром. экология. — 2003. — № 3. — С. 1–5.
 50. Потеряева Е. Л. Вибрационные висцеропатии в контексте системных микроангиопатий: (патоморфогенез, особенности клиники, вопросы терапии): Автореф. дис... д-ра мед. наук. — Новосибирск, 1999. — 44 с.
 51. Потеряева Е. Л., Захарьян А. Г., Слуцкая Е. В. Некоторые социально-гигиенические аспекты инвалидности вследствие профессиональных заболеваний в Новосибирской области // Мед. труда и пром. экология. — 2007. — № 9. — С. 38–39.
 52. Преображенский В. Н., Меркулов В. М., Васильев А. Ю. и др. Особенности формирования патологии желчного

- пузыря и желчевыводящих путей под влиянием вибрации // Тер. архив. — 1995. — № 2. — С. 16–17.
53. Рахимов Я. А., Сапин М. Р., Белкин В. Ш., Этинген Л. Е. Морфология внутренних органов при действии вибрации. — Душанбе: Высшая школа, 1979. — 264 с.
 54. Сахаров Д. А., Шкурников М. Ю., Тоневицкий А. Г. Кратковременный высокоинтенсивный физиологический стресс вызывает увеличение экспрессии белка теплового шока в лейкоцитах человека // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2009. — Т. 147, № 3. — С. 335–340.
 55. Свириева И. В., Мерцалова А. С., Рууге Э. К. Образование супероксидных радикалов в изолированных митохондриях сердца при малой концентрации кислорода // Биофизика. — 2010. — Т. 55, № 2. — С. 271–276.
 56. Скулачев В. П. Энергетика биологических мембран/ Под ред. С. Е. Северина. — М.: Наука, 1989. — 564 с.
 57. Смирнова Е. Л., Потеряева Е. Л., Никифорова Н. Г. Индивидуальные особенности перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у лиц с вибрационной болезнью в послеконтактном периоде // Мед. труда и пром. экология. — 2010. — № 8. — С. 36–40.
 58. Суворов Г. А., Пальцев Ю. П., Прокопенко Л. В. Физические факторы и стресс // Мед. труда и пром. экология. — 2002. — № 8. — С. 1–4.
 59. Сухаревская Т. М., Ефремов А. В., Непомнящих Г. И. и др. Микроангио- и висцеропатии при вибрационной болезни. — Новосибирск, 2000. — 238 с.
 60. Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э., Хилл Р., Леман И. Основы биохимии. — М.: Мир, 1980. — Т. 1, № 2. — С. 322–967.
 61. Ando H., Noguchi R., Ishitake T. Frequency dependence of hand-arm vibration on palmar sweating response // Scand. J. Work Environ. Health. — 2002. — Vol. 28, N 5. — P. 324–327.
 62. Ben-Dov C., Hartmann B., Lungren J., Valcarcel J. Genome-wide analysis of alternative pre-mRNA splicing // J. Biol. Chem. — 2008. — Vol. 283, N 5. — P. 1229–1233.
 63. Chance B., Williams G. R. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation // J. Biol. Chem. — 1955. — Vol. 217, N 1. — P. 383–451.
 64. Correa P. R., Kruglov E. A., Thomson M. Succinate is a paracrine signal for liver damage // J. Hepatology. — 2007. — Vol. 47, N 2. — P. 262–269.
 65. Goa J. A micro biuret method for protein determination. Determination of total protein in cerebrospinal fluid // Scand. J. Clin. Lab. Invest. — 1953. — Vol. 5. — P. 218–222.
 66. Greenstein D., Kester R. C. The role leukocytes in the pathogenesis of vibration-induced white finger // Angiology. — 1998. — Vol. 49, N 11. — P. 915–922.
 67. Griffin M. J., Bovenzi M. Dose-response patterns for vibration-induced white finger // Occup. Environ. Med. — 2003. — Vol. 60, N 1. — P. 16–26.
 68. He W., Miao F. J., Lin D. C. et al. Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G- protein-coupled receptors // Nature. — 2004. — Vol. 429. — P. 188–193.
 69. Issever H., Aksoy C., Sabuncu H., Karan A. Vibration and its effects on the body // Med. Princ. Pract. — 2003. — Vol. 12, N 1. — P. 34–38.
 70. Ishitake T. Hemodynamic changes in skin microcirculation induced by vibration stress in the conscious // Kurume Med. J. — 1990. — Vol. 37. — P. 235–245.
 71. Matoba T. Pathophysiology and clinical picture of hand-arm vibration syndrome in Japanese workers // Nagoya J. Med. Sci. — 1994. — Vol. 57. — P. 19–26.
 72. Matsumoto Y., Maeda S., Oji Y. Influence of frequency thresholds for magnitude of vertical sinusoidal whole-body vibration // Ind. Health. — 2002. — Vol. 40, N 4. — P. 313–319.
 73. Peproelska B., Szeszeia-Dabrowska N. Occupational diseases in Poland, 2001 // Int. J. Occup. Med. Environ. Health. — 2002. — Vol. 15, N 4. — P. 337–34.
 74. Saxton J. M. A review of current literature on physiological tests and soft tissue biomarkers applicable to work-related upper limb disorders // Occup. Med. — 2000. — Vol. 50, N 2. — P. 121–130.
 75. Semenza G. L. Expression of hypoxia-inducible factor 1: mechanisms and consequences // Biochem. Pharmacol. — 2000. — Vol. 59. — P. 47–53.
 76. Stroka D. M., Burkhardt T., Desballerts I. HIF-1 is expressed in normoxia tissue and displays an organ-specific regulation under systemic hypoxia // FASEB J. — 2001. — Vol. 15. — P. 2445–2453.
 77. Shishido T. A., Sugimachi M., Kawaguchi O. A new method to measure regional myocardial time — varying elastance using minute vibration // Amer. J. Physiol. — 1998. — Vol. 274. — P. 1404–1415.
 78. Vorobyeva V. V., Shabanov P. D. Vibration model for hypoxic type of cell metabolism evaluated on rabbit cardiomyocytes // Bull. Exp. Biol. Med. — 2009. — Vol. 147, N 6. — P. 712–715.

EFFECT OF GENERAL VIBRATION ON FUNCTIONS OF BREATH CHAIN IN THE RABBIT PARENCHIMATIC ORGANS

Vorobyeva V. V., Khorobrykh V. G., Shabanov P. D.

◆ **Summary:** The purpose of the paper was to study the activity of energy producing system of the rabbit liver and ren after exposure to general vibration of different type regimens. The energy dependent reactions of native mitochondria were investigated by means of polarographic method using Clark's closed membrane electrode. The energy producing system of the liver and ren was shown to be involved in response reaction of the organism on vibration exposure. The degree of functional activity of the liver and ren mitochondria depended on the studied regimens of vibration (frequency and duration) and manifested with misbalance between FAD- and NAD-dependent links of the breath chain. The increase in frequency and duration of vibration led to low energetic shift with activation of the oxidative system for succinate and the inhibition of NAD-dependent link of the breath chain in mitochondria as well as with dystrophy of the liver tissue.

◆ **Key words:** general vibration; mitochondria; energy metabolism; liver; ren; bioenergy hypoxia; low energetic shift; dystrophy.

◆ Информация об авторах

Воробьева Виктория Владимировна — к. м. н., ассистент кафедры фармакологии. Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова. 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6. E-mail: v.v.vorobeva@mail.ru.

Хоробрых В. Г. — преподаватель кафедры фармакологии. Кировская государственная медицинская академия. 610027, Киров, ул. К. Маркса, д. 112.

Шабанов Петр Дмитриевич — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии. Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова. 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

Vorobyeva Viktoriya Vladimirovna — Cand. Med. Sci. (Pharmacology), Lecturer, Department of Pharmacology, Military Medical Academy. 194044, St.-Petersburg, Acad. Lebedev St., 6. E-mail: v.v.vorobeva@mail.ru.

Khorobrykh V.G. — Lecturer. State Medical Academy of Kirov. 610027, Kirov, K. Marx St., 112.

Shabanov Petr Dmitriyevich — D.Sci. (Pharmacology), Professor and Head, Dept. of Pharmacology, Military Medical Academy. 194044, St.-Petersburg, Acad. Lebedev St., 6. E-mail: pdshabanov@mail.ru.