

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ
УДК 616.155.3-008.922.1-7

СВОЙСТВО УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА ИНГИБИРОВАТЬ ГЕНЕРАЦИЮ СУПЕРОКСИДНОГО АНИОН-РАДИКАЛА КЛЕТКАМИ И ЕГО БИОМЕДИЦИНСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

А.Х.КОГАН, С.В.ГРАЧЕВ, С.В.ЕЛИСЕЕВА, С.БОЛЕВИЧ

Московская медицинская Академия им. И.М.Сеченова
Кафедра патофизиологии и Научно-исследовательский центр

Исследование проведено на фагоцитах крови и альвеолярных макрофагах 96 человек, на клетках внутренних органов и тканевых фагоцитах (печени, мозга, миокарда, легких, почек, желудка, скелетных мышц), а также на митохондриях печени 186 беспородных белых мышей. Генерацию активных форм кислорода (АФК) определяли разными методами при прямом воздействии CO_2 на клетки и биоптаты и при непрямом на целостный организм. Результаты свидетельствуют, что CO_2 при напряжении, близком к наблюдаемому в крови (37,0 мм.рт.ст.) и при высоких напряжениях (60 и 146 мм.рт.ст.) является мощным ингибитором генерации АФК клетками тканей человека и животных, а также митохондриями печени мышей.

К активным формам кислорода (АФК) относятся: 1) супероксидный анион-радикал (O_2^- — CAP); 2) синглетный кислород ($^1\text{O}_2$) — кислород с одним возбужденным электроном (образуется в основном при взаимодействии O_2 с H_2O_2 в цикле Хабера-Вейса; 3) гидроксильный радикал ($\cdot\text{OH}$) и перекись водорода [1-5]. Образуются они во всех клетках, которые используют кислород для дыхания. Наиболее мощными среди разных видов клеток генераторами активных форм кислорода являются лейкоциты (фагоциты: гранулоциты и моноциты); генерация ими АФК и поглощение O_2 возрастает особенно резко при их возбуждении и фагоцитозе [4-9], что получило название "респираторного взрыва" лейкоцитов. Значение АФК в организме двоякое: с одной стороны, они способны оказывать повреждающее действие — посредством прямой инактивации сульфгидрильных групп ферментов, гормонов, рецепторов; деградации гиалуроновой кислоты, коллагена; изменения структуры ДНК. С другой стороны АФК способны оказывать защитное действие: микробоцидное и опухолецидное [7, 10].

До сих пор остается неизученным возможное регуляторное влияние CO_2 на генерацию АФК клетками разных тканей. Между тем, изучение этого вопроса представляет и общебиологический и медицинский интерес, поскольку CO_2 образуется постоянно во всех клетках и важно знать его модулирующее влияние на генерацию АФК.

Методика. В ходе изучения CO_2 на генерацию АФК клетками были использованы следующие методы.

1) Люминол-зависимый хемилюминесцентный метод определения генерации АФК лейкоцитами (фагоцитами: грануло- и моноцитами) крови, предложенный Allen R.C. и Loose L.D. [11] и описан также рядом авторов [12-15]. Измерение ХЛ проводили хемилюминометром ЛКБ-Валлак 1251 (LKB Wallace) (Швеция) при стандартных условиях: t 36,9°C, в объеме взвеси лейкоцитов 0,2 мл, концентрация их — 2500 в 1 мкл и общее количество (500×10^3). Взвесь готовили на буферной смеси (БС) pH 7,35, состоявшей из 7,5 мл 0,9% р-ра NaCl + 2,5 мл фосфатно-щелочного буфера pH 7,35 [16]. К взвеси для потенцирования ХЛ добавляли 20 мкл насыщенного ($\approx 10^{-4}$ М) раствора люминола (Boehringer Mannheim, Германия) в изотоническом растворе NaCl, pH 7,35. Регистрировали ХЛ до выхода ее на первый максимум, что соответствовало базальной ХЛ; обычно на это уходит 15-20 мин. На максимуме ХЛ добавляли фагоцитируемые корпускулярные частицы и снова регистрировали ХЛ до выхода на второй максимум, что соответствовало стимулированной ХЛ. Корпускулярные частицы добавляли в виде взвеси опсонизированного плазмой 4 группой крови зимозана 0,2 мл (исходный состав взвеси: 500 мг зимозана в 50 мл БС) или в виде 1% взвеси SiO_2 в 0,1 мл БС. После измерения базальной и стимулированной ХЛ рассчитывали показатель интенсивности ХЛ одного лейкоцита (сокращено ПИХЛ: а) базальный — ПИХЛб и б)

стимулированный — ПИХЛс) путем деления полученных максимумов на количество лейкоцитов в измеряемом объеме (для удобства использования величину умножали на 10^6). Лейкоцитарная смесь подвергалась воздействию газовых смесей путем прямого контакта с ними (а не продуванием) в газовой камере, заполненной соответственно: 1) воздухом (контроль), 2) воздух + 5,1 % CO_2 , 3) воздух + 8,2 % CO_2 , 4) воздух + 20% CO_2 ; t 36,9°C, длительность контакта 20 мин.

2) Люцигенин-зависимый ХЛ метод измерения генерации АФК лейкоцитами описан [15, 17, 5]. Как известно, оба вышеизложенных ХЛ метода высокочувствительны к изменениям pH. В наших экспериментах исходное pH 7,35 в инкубационной системе к концу опытов с CO_2 снижалось до 7,32 при 5,1% CO_2 и до 7,30 при 20% CO_2 . Поэтому ставились контрольные опыты без CO_2 с pH в инкубационной системе 7,35, 7,32, 7,30 (соответственно, контроль 1, 2а, 2б) и вносилась поправка в величины ХЛ с учетом измененного pH.

3) НСТ (нитросиний тетразолиевый) — реакция определения генерации САР лейкоцитами и макрофагами. НСТ-реакция основана на том, что в фагоцитирующих клетках НСТ восстанавливается “непосредственно” супероксид анион-радикалом [8, 14, 16] в синие гранулы формазана, по концентрации которого и судят о АФК. НСТ реакция ставилась в присутствии супероксиддисмутазы (СОД), специфически инактивирующей O_2^- . В контрольные пробы добавляли альбумин (Reanal, Венгрия) вместо СОД (Serva, Германия). Перед инкубацией с СОД лейкоциты обрабатывали 0,008% водно-спиртовым раствором тритона X-100. Инкубационная смесь содержала 0,3 мл взвеси лейкоцитов в БС pH 7,35 (5000 клеток в 1 мкл; их общее количество — $1,5 \times 10^6$) + 0,3 мл опсонизированного зимозана + 250 мкг СОД (или альбумина в контроле) в 0,2 мл БС pH 7,35 + 0,3 мл 0,2% раствора НСТ (Sigma, США) в БС. Реакцию проводили в той же газовой камере, что и в ХЛ исследованиях; лейкоцитарная взвесь подвергалась воздействию таких же смесей в течение 40 — 60 мин, t — 36,9°C. После окончания воздействия газовых смесей НСТ-реакцию останавливали добавлением 5N соляной кислоты. Продукты реакции формазаны экстрагировали смесью диметилсульфоксида и хлороформа (2:1) и измеряли спектрофотометрически ($\lambda = 560$ нм) их концентрацию в единицах оптической плотности. По разности концентраций формазанов в опыте и контроле судили о генерации САР.

4) НСТ-реакция определения НАДФ Н-стимулируемой генерации САР клетками тканей внутренних органов, разработанная Коганом А.Х. и др. [19].

Методика заключалась в следующем. У обследуемого человека или животного получали микробиоптаты из органов (желудка, печени, бронхов и др.), отмывали их БС, высушивали фильтровальной бумагой, взвешивали биоптаты с высокой точностью (до 10⁻⁵ г). Навески тканей измельчали глазными ножницами, инкубировали с 0,2% водно-спиртовым раствором тритона X-100 (Serva, Германия) (для последующего облегчения проникновения СОД в клетки), после чего измельченные биоптаты отмывали от следов тритона, инкубировали их в опыте с СОД, а в контроле — с альбумином. Затем опытные и контрольные пробы инкубировали с 0,1 мл 3% НАДФ-Н (Boehringer Mannheim, Германия) и 0,2 мл 0,2% НСТ в БС. Реакцию и все последующие манипуляции проводили как описано в п. 3. Результаты рассчитывали на 1 мг биоптата.

5) НСТ-реакция определения генерации САР зимозан (или SiO_2) — стимулируемые фагоцитами тканей внутренних органов, разработанная Коганом А.Х. и др. [20]. Методика принципиально не отличается от описанной в п. 4. Только вместо НАДФ-Н измельченный биоптат инкубировали с 0,2 мл опсонизированного зимозана, являющегося объектом фагоцитоза (“приманкой”) для тканевых фагоцитов, в основном макрофагов. Вместо зимозана для стимуляции тканевых фагоцитов использовали также 0,1 мл 1% взвеси SiO_2 в БС.

6) Опсонизация зимозана (фирмы Биолар) проводилась по методике, описанной Миллз Е.Л. и Куи П.У. [7].

7) Выделение лейкоцитарной массы (суммарно всех видов лейкоцитов) из крови — см. [14-17].

8) Выделение чистой популяции нейтрофилов в градиенте плотности фикола и верографина по методике English et. al. [21].

9) Выделение альвеолярных макрофагов из лаважной жидкости больных бронхиальной астмой — модификацией метода, описанного Ward C. et. al. [15].

10) Выделение митохондрий из печени мышей — по методу Schneider W.C., Hogeboom G.H. [22], с небольшими модификациями, создающими более мягкие условия выделения. На этих интактных митохондриях — МХ (содержащих 2 — 3 мг белка в 0,05 мл суспензии) исследовали окислительную и фосфорилирующую функции. Однако, в такой исходной суспензии МХ невозможно было НСТ — тестирование САР, поскольку НСТ-реакция протекала молниеносно (развивалось крайне интенсивное окрашивание в течение нескольких секунд), что мешало проведению исследования влияния CO_2 на генерацию САР. Поэтому мы разводили исходную суспензию МХ в 100 раз БС). Уменьшали также концентрацию НАДФ Н в 10 раз по сравнению с концентрацией в опытах на клетках. Кроме того, для введения в митохондрии СОД их предварительно инкубировали 30 сек с 0,008% водно-спиртовым раствором тритона Х-100 с последующей отмывкой. В контроле вместо СОД в суспензию МХ вводили альбумин. В остальном технология была аналогична описанной в пп. 3,4. Концентрацию конечных продуктов взаимодействия САР с НСТ-формазама рассчитывали на 0,1 мг белка.

11) Определение белка в суспензии МХ — по Lowry O.H. et al. [23].

12) Дыхание и фосфорилирование МХ изучали на полярографе LP-60 (ЧССР) — как описано Кондрашовой М.Н. и др. [24].

13) Приготовление различных газовых смесей CO_2 (5,1%, 8,2%, 20%) + воздух — были разработаны Коганом А.Х. и др. [18].

Исследования проведены у 75 здоровых людей — доноров, у 21 больного бронхиальной астмой и на 186 беспородных белых мышах — самцах весом 23 — 35 г.

Результаты и обсуждение. Полученные результаты могут быть представлены в виде следующих основных взаимосвязанных фактов:

1) Люминол-зависимым ХЛ методом в исследованиях на лейкоцитах, выделенных из крови 30 здоровых людей-доноров установлено, что CO_2 в концентрациях 5,1% ($P=37,0$ мм.рт.ст.), 8,2% ($P=60$ мм.рт.ст.) и 20% ($P=146$ мм.рт.ст.), в смеси с воздухом при общем давлении 730 мм.рт.ст., ингибирует по сравнению с контролем базальную (в покое) генерацию активных форм кислорода соответственно в среднем в: 3,52; 5,87 и 9,07 раз ($p<0,05$). CO_2 снижал также и генерацию АФК фагоцитами, стимулированную корпускулярными частицами: а) зимозаном — в 3,24; 4,43 и 7,95 раза и б) SiO_2 — в 2,99; 3,24 и 5,76 раза ($p<0,05$), (табл. 1).

Таблица 1

Влияние CO_2 на люминолзависимые хемилюминесцентные показатели генерации активных форм кислорода (АФК) лейкоцитами у здоровых людей-доноров

| NN | Исследуемые группы | Люминол-ХЛ показатели генерации АФ лейкоцитами ($M \pm m$) | | |
|----|---|--|----------------------------|----------------------------------|
| | | ПИХЛ6 ($n=30$) | ПИХЛс-03 ($n=10$) | ПИХЛс- SiO_2 ($n=20$) |
| I | 1) При исходном pH 7,35 (контроль N1) | 343,2 \pm 47,2 | 1443,8 \pm 251,6 | 424,8 \pm 58,9 |
| | 2) При конечном pH 7,32 (контроль N2a) | 295,0 \pm 62,5 | 1174,9 \pm 247,5 | 382,9 \pm 54,1 |
| | 3) При 5,1% CO_2 (37,0 мм.рт.ст.) + 94,9% воздуха (693 мм.рт.ст.) + конечное pH 7,32 (основной опыт) | 83,9 \pm 15,0* (3,52) | 362,1 \pm 66,6* (3,24) | 128,2 \pm 23,7* (2,99) |
| II | 1) При исходном pH 7,35 (контроль N1) | 358,8 \pm 35,3 | 1443,8 \pm 251,6 | 433,9 \pm 64,1 |
| | 2) При конечном pH 7,30 (контроль N2b) | 258,5 \pm 44,2 | 1043,0 \pm 225,4 | 375,4 \pm 62,9 |
| | 3) При 8,2% CO_2 (60,0 мм.рт.ст.) + 91,8% воздуха (670 мм.рт.ст.) + конечное pH 7,30 (основной опыт) | 50,2 \pm 11,0* (5,87)** | 235,6 \pm 27,8* (4,43) | 115,5 \pm 34,8* (3,24)** |
| | 4) При 20% CO_2 (146 мм.рт.ст.) + 80% воздуха (584 мм.рт.ст.) + конечное pH 7,30 (основной опыт) | 28,5 \pm 9,2* (9,07)** | 131,2 \pm 20,3* (7,95)** | 65,2 \pm 15,2* (5,76)** |

Примечания: ПИХЛ6 — базальный показатель интенсивности хемилюминесценции лейкоцитов (в мВ/сек 10^6 лейкоцитов)

ПИХЛс-03 — стимулированный опсонизированным зимозаном показатель интенсивности хемилюминесценции лейкоцитов (в мВ/сек 10^6 лейкоцитов)

ПИХЛс- SiO_2 — стимулированный SiO_2 показатель интенсивности хемилюминесценции лейкоцитов (в мВ/сек 10^6 лейкоцитов)

В скобках: КИВ CO_2 — коэффициент ингибирования CO_2 генерации активных форм кислорода лейкоцитами = ПИХЛ контроль N2 / ПИХЛ опыт

* — $p<0,05$ по сравнению с контролями N1 и N2

** — $p<0,05$ между опытами I и II

* — $p<0,05$ между опытами III и IV

Все приведенные замечания относятся также к нейтрофилам и макрофагам в табл. 3.

2) Ингибирующее влияние CO_2 на генерацию АФК фагоцитами установлено также другим методом исследования — люцигенин-зависимой хемилюминесценцией у 18 здоровых доноров: генерация САР снижалась в 1,45-2,19 раза ($p < 0,05$).

3) Ингибирующее влияние CO_2 на генерацию АФК фагоцитами крови подтверждено также химическим методом: НСТ — реакцией в 44 пробах у 22 доноров. Этой реакцией было обнаружено, что CO_2 в концентрациях 5,1% и 20% ингибирует генерацию САР фагоцитами в 3,15 и 5,13 раза; ($p < 0,001$), (табл. 2).

4) У 5 здоровых доноров установлено, что CO_2 снижает генерацию АФК чистой популяцией нейтрофилов (табл. 3).

5) Снижение генерации АФК при воздействии 8,2% CO_2 обнаружено не только на фагоцитах крови, но, в меньшей степени, и на альвеолярных макрофагах, выделенных из бронхо-альвеолярной лаважной жидкости 21 больного бронхиальной астмой (см. табл. 3).

Таблица 2

Влияние CO_2 на генерацию супероксидного анион-радикала (САР) лейкоцитами, определяемую в реакции с нитросиним тетразолием (НСТ) у здоровых людей-доноров.

| NN | Варианты опыта | n=про- бы | Концентрация формазанов в единицах оптической плотности (ЕОП) в реакции лейкоцитов с НСТ: $\lambda=560$ нм (M±m) | КИБ CO_2 |
|----|---|--------------|--|-------------------|
| 1 | Инкубация лейкоцитов в БС с рН 7,35 | 15 | 0,205±0,013 | |
| 2 | Инкубация лейкоцитов в БС с рН 7,25 | 6 | 0,226±0,010 | |
| 3 | Инкубация лейкоцитов в БС с рН 7,20 | 8 | 0,221±0,017 | |
| 4 | Инкубация лейкоцитов в БС с рН 7,35 + 5,1% CO_2 (37 мм.рт.ст.) + 94,9% воздуха (693 мм.рт.ст.) | 7 | 0,065±0,009* | 3,15 |
| 5 | Инкубация лейкоцитов в БС с рН 7,35 + 20% CO_2 (146 мм.рт.ст.) + 80% воздуха (584 мм.рт.ст.) | 8 | 0,040±0,006* | 5,13 |

Примечание. — $p < 0,001$ по сравнению с N1 — $p < 0,05$ между опытами. КИБ CO_2 — коэффициент ингибирования CO_2 генерации САР лейкоцитами = концентрация формазанов N1 / концентрация формазанов N4 и N5

БС — буферная смесь.

Таблица 3

Влияние CO_2 на люминолозависимые хемилюминесцентные показатели генерации активных форм кислорода (АФК) чистой популяцией нейтрофилов крови у здоровых людей-доноров и альвеолярными макрофагами у больных бронхиальной астмой (M±m)

| NN серий | Исследуемые группы | нейтрофилы доноров | | альвеол. макрофаги больных | | |
|-------------|---|----------------------|----------------------|----------------------------|------------------------------|------------------|
| | | ПИХЛ6 (n=5) | ПИХЛс-03 (n=5) | ПИХЛ6 (n=5) | ПИХЛс-S10 ₂ (n=5) | ПИХЛс-03 (n=5) |
| I | 1) При исходном рН 7,35 (контроль N1) | 415,3±51,2 | 1696,8±385,5 | 3,18±0,10 | 4,62±0,35 | - |
| | 2) При конечном рН 7,32 (контроль N2) | 324,4±44,7 | 1355,8±198,2 | 2,96±0,10 | 4,32±0,31 | - |
| | 3) При 5,1% CO_2 (37,0 мм.рт.ст.) + 94,9% воздуха (693 мм.рт.ст.) + конечное рН 7,32 (основной опыт) | 84,9±21,3* (3,82) | 381,9±72,2* (3,55) | 3,16±0,14 (0,94) | 4,38±0,33 (0,99) | - |
| II | 1) При исходном рН 7,35 (контроль N1) | 415,3±51,2 | 1696,8±385,5 | (n=21) 3,43±0,38 | (n=16) 4,62±0,353 | (n=5) 4,59±1,03 |
| | 2) При конечном рН 7,30 (контроль N2) | 315,4±41,4 | 1220,0±209,9 | 2,33±0,23 | 4,14±0,26 | 3,50±0,39 |
| | 3) При 8,2% CO_2 (60,0 мм.рт.ст.) + 91,8% воздуха (670 мм.рт.ст.) + конечное рН 7,30 (основной опыт) | 51,6±10,4* (6,11) | 221,4±33,8* (5,51) | 0,57±0,05* (1,48)** | 2,78±0,13* (1,49)** | 2,30±0,10 (1,50) |
| | 3) При 20% CO_2 (146,0 мм.рт.ст.) + 80% воздуха (584 мм.рт.ст.) + конечное рН 7,30 (основной опыт) | 28,2±11,4* (11,20)** | 141,0±14,4* (8,65)** | — | — | — |

См. примечание к табл. 1.

Таблица 4

Влияние CO_2 на НАДФ-Н-стимулируемую генерацию САР клетками различных органов (М+м)

| Биопаты органов | Газовая смесь | | Воздух/Воздух+8,2% CO_2 | Достоверность различия опыт-контроль |
|---------------------------|------------------|------------------------------------|----------------------------------|---|
| | Воздух(контроль) | Воздух + 8,2% CO_2 (опыт) | | |
| Печень n=8 | 1,116±0,140 | 0,337±0,027 | 3,31 | p<0,001 |
| Мозг n=10 | 0,770±0,086 | 0,165±0,025 | 4,7 | p<0,001 |
| Сердце n=9 | 0,659±0,090 | 0,193±0,023 | 3,4 | p<0,001 |
| Пилорус желудка n=3 | 0,862±0,144 | 0,248±0,044 | 3,5 | p<0,01 |
| Скелетные мышцы бедра n=3 | 1,083±0,105 | 0,338±0,041 | 3,2 | p<0,001 |

* САР — супероксидный анион-радикал (O_2^-).

В колонках таблицы приведены концентрации продуктов взаимодействия O_2^- с НСТ — формазанов в единицах оптической плотности на 1 мг биоптата ($\lambda = 560$ нм).

Полный состав газовой смеси в опыте: CO_2 — 8,2%, ($P = 60$ мм.рт.ст.) + воздух (обогащенный кислородом до 22,8% вместо 21% в норме) — 91,8% ($P_{\text{воздуха}} = 670$ мм.рт.ст.); P_{O_2} в воздухе = 153 мм.рт.ст. Общее P и в опыте, и в контроле = 730 мм.рт.ст.

6) CO_2 ингибирует генерацию АФК не только в фагоцитах крови и альвеолярных макрофагах, но и в клетках тканей внутренних органов. Установлено это на модели НАДФ-Н — стимулируемой генерации АФК в клетках печени, мозга, миокарда, пилоруса желудка и скелетных мышц в опытах на 14 мышах (табл. 4). В этих опытах 8,2% CO_2 ингибировал генерацию АФК в 3,2-4,7 раза ($p < 0,01$ или 0,001). Максимальное ингибирование отмечено в клетках мозга (в 4,7 раза). Аналогичное действие 8,2% CO_2 оказывал на зимозан- и SiO_2 -стимулируемую генерацию АФК тканевыми фагоцитами мозга, печени, пилоруса желудка.

Поскольку в естественных условиях (в крови) CO_2 действует в комбинации с O_2 , то мы сочли заслуживающим внимания дополнительное исследование влияния газовых смесей сходных по составу с газовыми смесями в артериальной крови ($\text{CO}_2 = 40$ мм.рт.ст. + $\text{O}_2 = 95$ мм.рт.ст. + $\text{N}_2 = 595$ мм.рт.ст.) и венозной крови ($\text{CO}_2 = 45$ мм.рт.ст. + $\text{O}_2 = 39$ мм.рт.ст. + $\text{N}_2 = 646$ мм.рт.ст.) и условно названных артериальной и венозной газовыми смесями. Установлено, что артериальная газовая смесь значительно ингибирует НАДФ-Н — стимулируемую генерацию АФК клетками печени, головного мозга, сердца, легких, почек, пилоруса желудка и “перепончатой” части желудка у животных (20 мышей) как правило в 1,7-3,0 раза по сравнению с контролем. Еще большее ингибирование НАДФ-Н — стимулируемой генерации АФК клетками тех же органов вызывала венозная газовая смесь, как правило в 2,2-7,3 раза; в клетках перепончатой части желудка ингибирование было наименьшим в 2,2 раза (везде $p < 0,01$ или 0,001), (табл. 5).

7) Ингибирующее влияние CO_2 на генерацию АФК было установлено не только в опытах с прямым воздействием углекислого газа на изолированные клетки, но и при воздействии на целостный организм. Предварительное вдыхание животными (42 мыши) в течение 50 мин газовой смеси 8,2% или 16,4% CO_2 с воздухом снижало НАДФ-Н — стимулируемую генерацию АФК клетками тканей внутренних органов (печени, мозга, легких, миокарда, пилоруса желудка и скелетных мышц) в 2,2 — 4,1 раза ($p < 0,01$ или 0,001) (табл. 6).

8) Кроме того, показано (в опытах а 49 мышах), что углекислый газ при прямом воздействии может ингибировать генерацию АФК митохондриями, выделенными из печени; степень ингибирования была близкой к аналогичной в опытах на клетках (табл. 7).

Предварительное воздействие 8,2% и 16,4% CO_2 на целостный организм путем вдыхания животными соответствующих газовых смесей также оказывает ингибирующее влияние на генерацию САР митохондриями печени. Она снижается по сравнению с контролем в 1,91 раза после вдыхания животными газовой смеси с 8,2% CO_2 и в 2,03 раза после вдыхания мышами газовой смеси с 16,4% CO_2 .

9) Поскольку в литературе аргументировано, что интермедиаты свободнорадикальных реакций, очевидно, способны вызывать разобщение окисления и фосфорилирования (4), то логично было исследование влияния CO_2 на дыхание и фосфорилирование. Проведенные эксперименты с вдыханием CO_2 (8,2%) мышами показали, что уг-

лекистый газ действительно повышает степень сопряженности дыхания и фосфорилирования и увеличивает скорость фосфорилирования в МХ (табл. 8). Коэффициент Р/О увеличивается в 1,55. Время фосфорилирования добавленной АДФ снижается в 1,65 раза, а скорость фосфорилирования при этом увеличивается в 1,36 раза ($p < 0,05$ или $0,01$).

Таблица 5

Влияние артериальной и венозной газовой смеси на НАДФ-Н-стимулируемую генерацию САР суммарно паренхиматозными и интерстициальными клетками различных органов мышей ($n=20$, $M \pm m$)

| Биопаты органов | Газовая смесь | | | Сравнение групп | | | | | |
|-----------------------------------|-------------------|----------------------------------|------------------------------|-----------------|-------|---------|------------------------------|-------------|-------------|
| | Воздух | Артериальная газовая смесь (АГС) | Венозная газовая смесь (ВГС) | В/АГС | В/ВГС | АГС/ВГС | Достоверность различия групп | | |
| | | | | | | | В-АГС | В-ВГС | АГС/ВГС |
| Печень $n=10$ | $0,910 \pm 0,082$ | $0,365 \pm 0,035$ | $0,240 \pm 0,040$ | 2,5 | 3,7 | 1,5 | $p < 0,001$ | $p < 0,001$ | $p < 0,05$ |
| Мозг $n=10$ | $0,985 \pm 0,107$ | $0,357 \pm 0,040$ | $0,251 \pm 0,030$ | 2,8 | 3,9 | 1,4 | $p < 0,001$ | $p < 0,001$ | $p > 0,05$ |
| Сердце $n=10$ | $1,210 \pm 0,115$ | $0,409 \pm 0,052$ | $0,167 \pm 0,015$ | 3,0 | 7,3 | 2,4 | $p < 0,001$ | $p < 0,001$ | $p < 0,001$ |
| Легкие $n=8$ | $1,075 \pm 0,085$ | $0,433 \pm 0,110$ | $0,225 \pm 0,030$ | 2,5 | 4,8 | 1,9 | $p < 0,001$ | $p < 0,001$ | $p > 0,05$ |
| Почки $n=8$ | $0,690 \pm 0,053$ | $0,348 \pm 0,041$ | $0,237 \pm 0,030$ | 1,9 | 2,9 | 1,5 | $p < 0,001$ | $p < 0,001$ | $p < 0,05$ |
| Пилорус желудка $n=10$ | $0,786 \pm 0,100$ | $0,326 \pm 0,004$ | $0,252 \pm 0,020$ | 2,4 | 3,1 | 1,3 | $p < 0,001$ | $p < 0,001$ | $p > 0,05$ |
| Перепончатая часть желудка $n=10$ | $0,430 \pm 0,045$ | $0,261 \pm 0,035$ | $0,192 \pm 0,023$ | 1,7 | 2,2 | 1,3 | $p < 0,01$ | $p < 0,001$ | $p > 0,05$ |

САР — супероксидный анион-радикал (O_2^-).

В таблице приведены концентрации продуктов взаимодействия O_2^- с НСТ — формазанов в единицах оптической плотности на 1 мг биоптата ($\lambda = 560$ нм).

Состав газовых смесей в опыте:

артериальной — CO_2 — 5,4% ($P=39,4$ мм. рт. ст.) + O_2 — 13% ($P = 95$ мм. рт. ст.) + N_2 — 81,5% ($P = 595$ мм. рт. ст.);

венозной — CO_2 — 6,2% ($P=45$ мм. рт. ст.) + O_2 — 5,3% ($P = 39$ мм. рт. ст.) + N_2 — 88,5% ($P = 646$ мм. рт. ст.).

Общее Р и в опыте, и в контроле = 730 мм. рт. ст.

Таблица 6

Изменение НАДФ-Н — стимулируемой генерации САР суммарно паренхиматозными и интерстициальными клетками различных органов мышей ($n=42$) после воздействия 8,2% и 16,4% CO_2 на целостный организм ($M \pm m$)

| № серий | Биопаты органов, n -их число | Газовая смесь, вдыхаемая животным | | Воздух/Воздух+ CO_2 | Достоверность различия опытно-контроль |
|---------|--------------------------------|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------|--|
| | | Воздух (контроль) | Воздух+ CO_2 (опыт) | | |
| I | Печень $n=15$ | $0,988 \pm 0,06$ | $0,402 \pm 0,04$ | 2,5 | $p < 0,001$ |
| | Мозг $n=15$ | $0,886 \pm 0,06$ | $0,378 \pm 0,02$ | 2,3 | $p < 0,001$ |
| | Сердце $n=3$ | $0,935 \pm 0,12$ | $0,345 \pm 0,02$ | 2,7 | $p < 0,001$ |
| | Желудок (пилорус) $n=4$ | $0,917 \pm 0,02$ | $0,322 \pm 0,04$ | 2,8 | $p < 0,01$ |
| | Мышца скелетная $n=4$ | $1,103 \pm 0,09$ | $0,270 \pm 0,04$ | 4,1 | $p < 0,001$ |
| II | Печень $n=15$ | $0,988 \pm 0,06$ | $0,371 \pm 0,06$ | 2,7 | $p < 0,001$ |
| | Мозг $n=15$ | $0,886 \pm 0,06$ | $0,329 \pm 0,07$ | 2,7 | $p < 0,001$ |
| | Сердце $n=9$ | $0,935 \pm 0,12$ | $0,287 \pm 0,07$ | 3,3 | $p < 0,001$ |
| | Легкие $n=4$ | $1,083 \pm 0,10$ | $0,498 \pm 0,10$ | 2,2 | $p < 0,05$ |

САР — супероксидный анион-радикал (O_2^-).

В таблице приведены концентрации продуктов взаимодействия O_2^- с НБТ — формазанов в единицах оптической плотности на 1 мг биоптата ($\lambda = 560$ нм).

Состав газовой смеси вдыхаемой животным:

I — CO_2 — 8,2% ($P = 60$ мм. рт. ст.) + воздух (обогащенный кислородом до 22,4% вместо 21% в норме) — 91,8% ($P_{\text{воздуха}} = 670$ мм. рт. ст.); P_{O_2} в воздухе = 150,1 мм. рт. ст. Общее Р и в опытах, и в контроле = 730 мм. рт. ст.

II — CO_2 — 16,4% ($P = 120$ мм. рт. ст.) + воздух (обогащенный кислородом до 25,1% вместо 21% в норме) — 83,6% ($P_{\text{воздуха}} = 610$ мм. рт. ст.); P_{O_2} в воздухе = 153,1 мм. рт. ст. Общее Р и в опытах, и в контроле = 730 мм. рт. ст.

Таблица 7

Изменение НАДФ-Н — стимулируемой генерации САР митохондриями печени мышей (n=49) при прямом воздействии на митохондрии 8,2% CO₂ (M±m)

| Объект исследования | Газовая смесь, вдыхаемая животным | | Воздух/Воздух+CO ₂ | Достоверность различия опыт-контроль |
|-------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---|
| | Воздух (контроль) | Воздух+CO ₂ (опыт) | | |
| Митохондрии печени n=49 | 6,50±0,85 | 2,04±0,027 | 3,2 | p<0,001 |

САР — супероксидный анион-радикал (O₂⁻).

В таблице приведены концентрации продуктов взаимодействия O₂ с НСТ — формазанов в единицах оптической плотности на 0,1 мг митохондриального белка (λ = 560 нм).

Полный состав газовой смеси в опыте — см. табл. 4.

Таблица 8

Изменение окисления и фосфорилирования в митохондриях (MX) печени мышей после вдыхания газовой смеси с 82% CO₂ (M±m)

| Показатели функции | Вдыхаемая животными газовая смесь | | Достоверн. различия опыт-контроль |
|--------------------|-----------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| | воздух (контроль) | воздух+CO ₂ (опыт) | |
| V ₂ | 23,4±1,29 | 21,8±2,47 | — |
| V ₃ | 66,0±1,63 | 59,1±3,77 | — |
| V ₄ | 30,5±1,17 | 28,5±3,42 | — |
| CD | 2,88±0,12 | 2,78±0,19 | — |
| ДК | 2,18±0,07 | 2,12±0,14 | — |
| ΔO _{фос} | 153,1±12,8 | 95,1±8,94 | p<0,05 |
| t _{фос} | 55,7±3,90 | 33,8±3,09 | p<0,01 |
| P/O | 1,40±0,13 | 2,17±0,21 | p<0,01 |
| V _{фос} | 1,54±0,14 | 2,10±0,21 | p<0,05 |

Состав газовой смеси, вдыхаемой животным:

CO₂ — 8,2% (P = 60 мм. рт. ст.) + воздух (обогащенный кислородом до 22,4% вместо 21% в норме) — 91,8% (P_{воздуха} = 670 мм. рт. ст.; P₂ в воздухе = 150,1 мм. рт. ст. Общее P и в опытах, и в контроле = 730 мм. рт. ст.

V₂, V₃, V₄ — скорость дыхания MX (в мин. на 1 мг белка MX) соответственно: в присутствии в среде инкубации только субстрата окисления — сукцината (5 mM); после добавления аденозиндифосфата — АДФ (200 мкМ); после фосфорилирования АДФ.

CD — стимуляция дыхания (V₃/V₂).

ДК — дыхательный контроль (V₃/V₄).

ΔO_{фос} — количество кислорода, использованного на фосфорилирование добавленного АДФ; t_{фос} — время фосфорилирования АДФ; P/O — эффективность фосфорилирования (АДФ/ΔO_{фос}); V_{фос} — скорость фосфорилирования (АДФ/t_{фос}, мг белка MX).

Среда выделения MX: сахароза — 0,320 М, трис — 0,020 М, ЭДТА — 0,001 М (pH 7,5). Среда инкубации: сахароза — 0,240 М, MgCl₂ — 0,005 М, K₂HPO₄ — 0,010 М.

Полный состав газовой смеси, вдыхаемой животным, см. табл. 6.

Полученные результаты свидетельствуют о свойстве углекислого газа в концентрации, близкой к физиологической в крови (5,1%; P CO₂ = 37 мм. рт. ст.) и в высоких концентрациях (8,2%, 16,4% и 20%; P CO₂ = 60, 120 и 146 мм. рт. ст.) оказывать мощное ингибирующее влияние на генерацию активных форм кислорода клетками крови и внутренних органов. Этот эффект CO₂ на генерацию активных форм кислорода подтвержден на 7 видах фагоцитирующих клеток (фагоцитах крови, альвеолярных макрофагах, тканевых фагоцитах — макрофагах печени, мозга, легких, почек, пилоруса желудка), 7 видах тканевых (суммарно паренхиматозных и интерстициальных) клеток внутренних органов (печени, мозга, сердца, легких, почек, желудка, скелетных мышц), а также на MX печени. Эффект наблюдался как при воздействии CO₂ на целостный организм, так и при прямом воздействии CO₂ на клетки изолированных биоптатов внутренних органов. Наблюдение подтверждено тремя различными методами (люминол- и люцигенин-хемилюминесцентные и НСТ методы). Ингибирующее действие CO₂ на генерацию САР обнаружено также недавно на органах лягушек (Коган А.Х. и др., неопубликованные данные).

Все изложенное обосновывает, что АФК-ингибирующий эффект CO_2 действительно является универсальным для изученных различных видов клеток и, очевидно, для различных видов животных; не связан с предполагаемой сопутствующей гипоксией, поскольку в опытах на клетках внутренних органов и МХ P O_2 в газовой смеси был близок к P O_2 в атмосфере ($= 150 - 153,1$ мм. рт. ст.) и гипоксия отсутствовала (см. табл. 4,7). Следовательно, ингибирование генерации АФК углекислым газом является его "персональным" свойством. Конечно, не исключено, что гипоксия, если бы она сочеталась с углекислым газом (в изученных нами концентрациях), и оказала бы определенное модифицирующее влияние. Но это требует специального изучения. Данные о влиянии на генерацию САР "артериальной" и "венозной" газовых смесей как будто говорят в пользу такого предположения. Однако, эти данные, по нашему мнению, еще недостаточно убедительны для такого утверждения, поскольку наряду со снижением P O_2 в "венозной" газовой смеси несколько повышалось и P CO_2 (на 5,6 мм. рт. ст., табл. 5), что также могло сказаться на результатах. Относительно МХ, помимо вышеизложенного, следует заметить, что P O_2 , при котором начинает снижаться их дыхание и, следовательно, достоверно развиваться гипоксия, находится в пределах 0,5-1 мм. рт. ст. [24], и поэтому доводы против предположения о возможном вкладе гипоксии в АФК-ингибирующее действие CO_2 на МХ еще более сильные. АФК-ингибирующий эффект CO_2 не связан существенно с изменениями pH, так как в опытах с измерением генерации АФК лейкоцитами крови хемилюминесцентными методами вносилась поправка на изменение pH, но эффект сохранялся (см. табл. 1-3).

Небезынтересно, что степень угнетения углекислым газом (8,2%) генерации САР на изолированных клетках биоптатов печени и печеночных МХ были близки между собой, соответственно 3,3 (табл. 4) и 3,2 (табл. 7). Это дает основание полагать, что ингибирующее влияние CO_2 на генерацию САР клетками реализуется, по крайней мере отчасти, посредством воздействия на МХ. Однако, поскольку в опытах на МХ печени, как и в клетках, изучалась НАДФ-Н — стимулируемая генерация АФК, то возникает вопрос о реально возможном окислении НАДФ-Н в МХ печени. Takeshige K. and Minakami Sh. в 1975 г. [26] сообщили о наличии исходной низкой НАДФ-Н — оксидазной активности в субмитохондриальных электронно-транспортных частицах из бычьего сердца, усиливающейся при добавлении ионов Fe^{3+} и АТФ. Erstner L. в 1995 г. [27] подтвердил, что образование АФК дышащими митохондриями и субмитохондриальными частицами можно усилить добавлением Fe-хелатов (например, АДФ — Fe^{3+}) в присутствии НАДФ-Н или аскорбата.

Можно предположить, что в реальной жизни участие НАДФ-Н в образовании САР в митохондриях может происходить при ишемии, реперфузии, воспалении, гипоксии, а также при пограничных состояниях ("физиологическая" гипоксия новорожденных, "физиологическое" старение), сопровождающихся изменением свойств мембран МХ. Следует, однако, заметить, что образование САР в митохондриях возможно, очевидно, и без участия НАДФ-Н путем аутоокисления восстановленных форм основных электронно-транспортных факторов терминальной дыхательной цепи [28].

Проведенные исследования на МХ печени мышей, подвергнутых предварительному воздействию умеренных доз CO_2 (8,2% = 60 мм. рт. ст.), показали в соответствии с литературными данными [29], что углекислый газ действительно повышает степень сопряженности дыхания и фосфорилирования и увеличивает скорость фосфорилирования (табл. 8).

Значение результатов исследования заключается, прежде всего, в том, что они позволяют по-новому подойти к анализу механизма ряда физиологических и патофизиологических (медицинских) эффектов CO_2 . Хорошо известно вазодилаторное действие CO_2 [29]. Исходя из полученных данных, можно объяснить его, по крайней мере отчасти, посредством ингибирования O_2 и его производных. Подтверждением этой гипотезы являются, в определенной мере, опыты Xin-Liang M. et. al. [31], в которых показано, что активированные нейтрофилы вызывают эндотелий-зависимую вазоконстрикцию изолированного коронарного артериального кольца сердца кошки, подвергнутого 90-минутной слабой перфузии + 20-минутной реперфузии; в то же время добавление СОД ослабляет вазоконстрикцию. Otag H.A. et. al. [32] показали, что ингибирование цитозольной ZnCu формы СОД полностью выключает эндотелий- и цГМФ-зависимую вазодилатацию, вызываемую ацетилхолином через образуемый эндотелием нитроксидрелаксирующий фактор. С позиций приведенных данных можно трактовать, благоприятный эффект CO_2 при облитерирующем эндартериите [33]. Полученные данные

могут объяснить описанные в литературе [34-35] случаи благоприятного действия CO_2 на развитие бронхиальной астмы. Можно думать, что это обусловлено установленным нами ингибирующим влиянием CO_2 на генерацию лейкоцитами и альвеолярными макрофагами АФК, роль которых в патогенезе бронхиальной астмы обоснована [37-38].

Небезынтересно отметить, что при бронхиальной астме у детей гиперкапнотерапия более эффективна у тех больных, у которых фагоциты сохранили высокую чувствительность к ингибирующему действию CO_2 на генерацию АФК [35]. В связи с этим, нами выдвинуто предположение о целесообразности предварительного определения чувствительности фагоцитов к CO_2 с тем, чтобы проводить гиперкапнотерапию только больным с высокой чувствительностью к ингибирующему действию CO_2 [35-36]. Результаты исследования имеют также значение для анализа глобальной биоэкопроблемы, связанной с прогрессирующим антропогенным нарастанием CO_2 в атмосфере [39]. Такое нарастание может потенциально иметь двойкий биомедицинский выход: с одной стороны, оно может вызвать благоприятное снижение общего уровня патогенных свободнорадикальных реакций в организме человека и животных, а с другой — может привести к снижению микроцидной функции лейкоцитов, а это, в свою очередь, может способствовать снижению антиинфекционной защиты и привести к "спонтанной" вспышке и неожиданному распространению инфекционных болезней.

Таким образом, в настоящей статье установлено, что углекислый газ является универсальным ингибитором генерации активных форм кислорода различными клетками человека и животных. Полученные данные позволяют по-новому с позиции роли АФК, объяснить ряд физиологических и патофизиологических (медицинских) эффектов CO_2 .

Мы полагаем, что наши результаты могут по-новому объяснить защитную роль CO_2 в сохранении жизни на Земле при появлении кислорода в атмосфере и смене анаэробного способа образования энергии на аэробный [9, 40, 42].

ЛИТЕРАТУРА

1. Фридович И.В. кн.: Свободные радикалы в биологии. / Ред. Прайор У. перевод с англ. М.: Мир, 1979. — С. 272-314.
2. Grisman M., Granger D.N. // Digestive Diseases and Sciences — 1988. — Vol. 3. — P. 69-158.
3. Halliwell B., Gutteridge J. Free Radicals in Biology and medicine. Oxford: Clarendon Press — 1989. — P. 416-508.
4. Коган А.Х., Погромов А.П. Активные формы кислорода, лейкоциты и патогенез гастродуоденальной язвенной болезни. // М. — 1991ю — С. 28.
5. Владимиров Ю.А., Шерстнев М.П. Хемилюминесценция клеток животных. // Издание ВИНТИ, серия биофизика, — 1989. — Т. 24. — С. 171.
6. Rossi F., et al. In book: Advances in inflammation research, edited by Weisman J. et al. Raven Press. New York. — 1979. — Vol. 1. — P. 139-155.
7. Миллз Е.Л., Куи П.У. В кн.: Исследование фагоцитоза в клин. практике / Ред. Дуглас С.Д. и Куи П.У., перевод с англ. М., 1983. — С. 78-90.
8. Scoff R.E., Matter J., Meyerburg, et al. // J. Immunol. Methods. — 1984. — Vol. 67. — P. 109-117.
9. Bellavite P. // Free Radical Biology and Medicine. — 1988. — Vol. 4. — P. 225-261.
10. Коган А.Х., Чернов В.А., Сиянская Г.П. и др. // ДАН. — Т. 256, N 5. — С. 1273-1277.
11. Allen R.C., Loose L.D. // Biochem. Biophys. Res. Comm. — 1976. — Vol. 69. — P. 245-252.
12. Stevens P., Winston, van Dyke K. // Infection and Immunity. — 1978. — Vol. 22. — P. 41-51.
13. Коган А.Х., Лосев Н.И., Цыпин А.Б. и др. // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 1989. — Т. 107, N 6. — С. 688-690.
14. Коган А.Х., и др. Способ определения супероксидного анионрадикала при фагоцитозе. Авторское свидетельство N 1735784 от 29.01.92 // Бюлл. открытий и изобретений. — 1992. — N 79.
15. Ward C., Kelly C.A., Stenton S.C., et al. // Eur. Respir. J. — 1990. — Vol. 3. — P. 1008-1014.
16. Рабинович В.А., Хавин З.Я. Краткий химический справочник. — Л.: Издат. Химия. — 1977. — С. 231-237.
17. Коган А.Х., Лосев Н.И., Бирюков Ю.В. и др. // Патофизиол. и эксп. терапия. — 1991. — N1. — С. 46-50.
18. Коган А.Х., Мануйлов Б.М., Грачев С.В. и др. // Бюлл. экпер. биол. и мед. — 1994. — Т. СХVIII, N 10. — С. 395-398. см. также журн. Физиология человека. — 1995. — Т. 21. — N 4. — С. 128-136.
19. Коган А.Х., Хапугина И.В., Расулов М.И. и др. Заявка на изобретение "Способ определения генерации супероксидного анионрадикала клетками тканей внутренних органов". Государственный регистр. N 94025907 от 15.07.94 г. Бюллетень "Изобретения" — 1996. — N 21.
20. Коган А.Х., Хапугина И.В., Расулов М.И. и др. Заявка на изобретение "Способ определения генерации супероксидного анионрадикала фагоцитами тканей внутренних органов". Государственный регистр. N 94025908 от 15.07.94 г. Бюллетень "Изобретения" — 1996. — N 21.
21. English D., et al. In book: Liquid Scintillation, Science and Technology. Noujam A.A., Weibe L. and Ediss C. / eds. Academic Press New York. — 1976. — P. 227-242.
22. Schneider W.C., Hogeboom G.H. // J. Biol. Chem. — 1950. — Vol. 183. — P. 123.
23. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. et al. // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193. — P. 265-276.
24. Кондрашова М.Н., Николаева Л.В., Чистяков В.В. и др. В кн.: Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом. М.: Наука, 1973. — С. 50-59.
25. Колчинская О.З., В кн.: Вторичная тканевая гипоксия. — Киев. — 1983. — С. 37.
26. Takeshige K., Minakami Sh. // J. Biochem. — 1975. — Vol. 77. — P. 1067-1073.

27. Ernster L. // Abstracts of International Congress. on Free Radicals in health and disease. Istanbul, September 6-10 & — 1995. — L.3.
28. Fridovich I. // Advances in neurology. — 1980. — Vol. 26. — P. 255-259.
29. Клименко О.С., Сукачева Л.А. // Украинский биохимический журнал. — 1980. — Т. 52, N 2. — С. 240-243.
30. Schmidt R.F., Thews G. Human Physiology / 2 nd edition, Springer. — Verlag. Berlin. — 1989. — P. 507.
31. Xin-Liang M., Tsao Ph.S., Viehman I.E., et. al. // Circulation Res. — 1991. — Vol. 69. — P. 95-106.
32. Omar H.A., Cherry P.D., Mortelliti M.P., et. al. // Circulation Research. — 1991. — Vol. 69. — P. 601-608.
33. Аминев Ф.С. // Здравоохранение Казахстана. — 1963. — N 2. — С. 29-31.
34. Воробьев И.И., Нефедов В.Б. Волевое ограничение легочной вентиляции и задержка дыхания на выдохе в лечении бронхиальной астмы. Методические рекомендации. М. — 1986.
35. Даирова Р.А. Патогенетическая роль генерации активных форм кислорода лейкоцитами и эффективность немедикаментозной терапии при бронхиальной астме у детей // Автореф. дис. докт. мед. наук. — М., 1995. — 49 с.
36. Даирова Р.А., Болевиц С., Коган А.Х. и др. Гиперкапнотерапия и свободнорадикальные процессы при бронхиальной астме // В кн.: 5-й Нац. Конгресс по болезням органов дыхания. М., 1995. — N 1658.
37. Bolevic S., Dairova R.A., Geppe N.A., Kogan A. Kh. Hypercapnotherapy and free radical processes in asthma // JSFRR. — 1994, Sydney, Australia.
38. Болевиц С. Свободнорадикальные кислородные и липидные процессы и возможность их коррекции у больных бронхиальной астмой // Автореф. дис. канд. мед. наук. — М., 1991. — 24 с.
39. Борзенкова И.И., Будько М.И., Бютнер Э.К. и др. // Антропогенные изменения климата. — Л. — 1987. — 405 с.
40. Рутген М. Происхождение жизни. — Перевод с англ. М.: Мир, 1979. — С. 155-157.
41. Клауд П., Джигбор А. Круговорот кислорода. В кн.: Биосфера / перевод с англ. М.: Мир, 1972. — С. 73-90.
42. Коган А.Х., Грачев С.В., Елисеева С.В. // ДАН. — 1995. — Т. 340, N 1. — С. 132-134.

ABILITY OF CO₂ TO INHIBIT THE GENERATION OF SUPEROXIDE ANION-RADICAL BY CELLS AND ITS BIOMEDICAL IMPORTANCE

A.Kh.Kogan, S.V.Grachev, S.V.Yeliseeva, S. Bolevich

Sechenov Moscow Medical Academy Pathophysiology Chair and Research Centre

The study was carried out on blood phagocytes and alveolar macrophages of 96 persons, cells of inner organs and tissue phagocytes (liver, brain, myocardium, lungs, kidneys, stomach, skeletal muscles, as well as on mitochondrias of the liver of 186 non-linear white mice. Generation of active oxygen forms (AOF) was evaluated by various methods with CO₂ directly affecting the cells and biotates and indirectly the whole organism. The results show that CO₂ with tension close to that of the blood (37,0 mm Hg) and at higher tensions (60 and 146 mm Hg) is a powerful inhibitor of AOF generation by human and animal cells, as well as by liver mitochondria of mice. The data obtained allow to explain, in terms of AOF role, a number of physiological and pathophysiological (medical) CO₂ effects.