

А. С. ОГАНЕСЯН, Ч. С. ЧШМАРИТЯН, Ж. С. ГЕВОРКЯН

О ТРАНСПОРТЕ ГЛЮКОЗЫ В ЭРИТРОЦИТЫ

Рядом авторов [2, 4, 6, 7] было показано, что тиоловые реагенты подавляют поглощение глюкозы эритроцитами. С другой стороны, сердечный глюкозид-строфантин ингибирует активность мембранной аденозинтрифосфатазы (АТФ-аза) эритроцитов и нарушает транспорт ионов калия и натрия в них [3, 5]. Нашими исследованиями [1] установлено, что тиоловые реагенты (парахлормеркурибензойная кислота—ПХМБ, N-этилимид малеиновой кислоты—НЭМ), а также строфантин подавляют поглощение глюкозы мозговой, мышечной и почечной тканями путем подавления активности мембранной АТФ-азы этих тканей, а АТФ и восстановленный глутатион снимают подавляющие эффекты этих веществ как в отношении активности АТФ-азы, так и в отношении транспорта глюкозы.

Эритроциты (как и мозговая ткань) являются инсулинонечувствительными, и в процессах транспорта глюкозы в них этот гормон не принимает участия. Вместе с этим известно, что переход глюкозы через мембраны эритроцитов не является простой диффузией.

В развитие наших прежних исследований мы провели ряд опытов по изучению влияния адениннуклеотидов (АТФ, АДФ, АМФ), строфантина и тиоловых реагентов (ПХМБ и НЭМ) на поглощение глюкозы эритроцитами белых крыс. Эритроциты предварительно промывали физиологическим раствором 3 раза и инкубировались на буфере Кребс-Рингера; газовая фаза: кислород-углекислый газ в соотношении 95:5. Эритроциты инкубировали в течение 2 ч. при $t=37^{\circ}\text{C}$. Глюкозу определяли по Дюмазере.

Как показывают данные, приведенные в табл. 1, АТФ стимулирует поглощение глюкозы эритроцитами. Так, например, в контрольных опытах поглощение глюкозы составляет 0,65 мг, а в присутствии АТФ—0,8 мг/мл эритроцитов (2 ч.); АДФ и АМФ, а также глутатион не оказывают влияния на этот процесс.

Строфантин и тиоловые реагенты вызывают значительное подавление транспорта глюкозы в эритроциты (табл. 2). В контрольных опытах поглощение глюкозы эритроцитами составляет 0,75 мг, а в присутствии строфантина—0,26 мг, ПХМБ—0,56 мг, НЭМ—0,34 мг.

Интересно отметить, что глутатион не снимает подавляющего действия упомянутых агентов на транспорт глюкозы в эритроциты. Между тем, как видно из табл. 3, АТФ устраняет ингибирующее действие как строфантина, так и тиоловых реагентов на поглощение глюкозы эритро-

цитами. В некоторых случаях АТФ почти полностью восстанавливает нормальную картину поглощения глюкозы.

Интересно отметить (табл. 4), что как строфантин, так и тиоловые реагенты, наряду с подавлением поглощения глюкозы, вызывают разрушение эритроцитов (гемолиз). Глютатион сам по себе не оказывает

Таблица 1

Влияние АТФ, АДФ, АМФ и глютатиона на поглощение глюкозы эритроцитами

Контроль	АТФ 6 милли- моль	АДФ 6 миллимоль	АМФ 6 миллимоль	Глютатион миллимоль
$0,65 \pm 0,07$ (10)	$0,8 \pm 0,09$ (8) $P < 0,02$	$0,6 \pm 0,08$ (6) $P < 0,02$	$0,63 \pm 0,07$ (6) $P < 0,1$	$0,59 \pm 0,07$ (8) $P < 0,03$

Таблица 2

Влияние восстановленного глютатиона и тиоловых реагентов на поглощение глюкозы эритроцитами

Контроль	Глютатион 1,25 мил- моль	Строфан- тин 0,5 миллимоль	Строфан- тин+глю- татион	ПХМБ 0,5 миллимоль	ПХМБ+ глютатион	НЭМ 0,5 миллимоль	НЭМ+ глютатион
$0,75 \pm 0,07$ (6)	$0,7 \pm 0,08$ (5) $P < 0,05$	$0,26 \pm 0,03$ (5) $P < 0,01$	$0,29 \pm 0,04$ (4) $P < 0,01$	$0,56 \pm 0,05$ (6) $P < 0,1$	$0,53 \pm 0,04$ (6) $P < 0,02$	$0,34 \pm 0,04$ (4) $P < 0,01$	$0,32$ (4) $P < 0,03$

Таблица 3

Влияние строфантина, тиоловых реагентов и АТФ на поглощение глюкозы эритроцитами

Контроль	АТФ 3 миллимоль	Строфан- тин 0,5 миллимоль	Строфан- тин+АТФ	ПХМБ 0,5 миллимоль	ПХМБ+ АТФ	НЭМ 0,5 миллимоль	НЭМ+ АТФ
$0,65 \pm 0,07$ (6)	$0,8 \pm 0,09$ (8) $P < 0,01$	$0,16 \pm 0,03$ (5) $P < 0,01$	$0,37 \pm 0,04$ (5) $P < 0,01$	$0,48 \pm 0,06$ (5) $P < 0,03$	$0,7 \pm 0,06$ (5) $P < 0,01$	$0,25 \pm 0,04$ (4) $P < 0,01$	$0,51 \pm 0,06$ (4) $P < 0,01$

Таблица 4

Влияние строфантина, тиоловых реагентов и глютатиона на гемолиз крови

Контроль	Глютатион 1,25 мил- лимоль	Строфантин 0,5 милли- моль	Строфан- тин+ глюта- тион	ПХМБ 0,5 мил- лимоль	ПХМБ+ глюта- тион	НЭМ 0,5 милли- моль	НЭМ+ глюта- тион
—	—+	++	++	++	++++	++	++

влияния на гемолиз эритроцитов и не устраняет гемолитический эффект упомянутых веществ (как это наблюдалось и в отношении поглощения глюкозы). Иная картина наблюдается, когда в инкубируемую среду

вместе с строфантином, ПХМБ и НЭМ добавляется и АТФ (табл. 5), который, сам по себе не оказывая влияния на эритроциты, полностью снимает гемолитический эффект этих веществ.

Таблица 5

Влияние строфантина, тиоловых реагентов и АТФ на гемолиз крови

Контроль	АТФ 6 миллимоль	Строфантин 0,5 милли- моль	Строфан- тин+ АТФ	ПХМБ 0,5 мил- лимоль	ПХМБ+ АТФ	НЭМ 0,5 милли- моль	НЭМ+ АТФ
—	—	++	—	++	—	++	—

Приведенные данные показывают, что как строфантин, так и тиоловые реагенты подавляют транспорт глюкозы в эритроциты и вызывают их разрушение (гемолиз). АТФ снимает подавляющий эффект этих веществ как в отношении транспорта глюкозы, так и в отношении гемолиза. Между тем глутатион не оказывает влияния на эффекты, вызванные строфантином и тиоловыми реагентами. Более того, глутатион иногда проявляет гемолитическое действие.

Оболочка эритроцитов представляет собой определенный барьер, препятствующий свободному переходу глюкозы внутрь клетки. Было установлено, что переход глюкозы через мембраны эритроцитов происходит путем активного транспорта. В литературе имеются указания на то, что тиоловые реагенты подавляют поглощение глюкозы эритроцитами. Результаты наших прежних исследований [1] показали, что как тиоловые реагенты, так и строфантин одновременно подавляют и транспорт глюкозы и активность мембранной АТФ-азы мозговой (срезы) и мышечной тканей. Глутатион (восстановленный) и АТФ снимают тормозящий эффект этих ингибиторов как в отношении глюкозы, так и в отношении активности АТФ. Однако в отношении транспорта глюкозы в эритроциты глутатион не проявляет той активности, которая наблюдалась в отношении мозговой и мышечной тканей. По литературным данным, АТФ-аза является тиоловым ферментом, его SH-группы играют важную роль в проявлении его ферментативной активности. Наши исследования, проведенные на мозговой ткани, показали, что SH-группы АТФ-азы, помимо ферментативной активности, принимают участие также в процессе транспорта глюкозы через клеточную мембрану. Результаты исследований, проведенных с эритроцитами, показывают, что находящееся в составе мембран эритроцитов соединение, содержащее SH-группы, которое принимает участие в транспорте глюкозы, отличается по своим свойствам от такового, локализованного в клеточных оболочках мозговой ткани. Было установлено, что соединением, содержащим сульфгидрильные группы, входящим в состав мембраны мозговой клетки и принимающим участие в транспорте глюкозы, является АТФ-аза. Мы предполагаем, что в эритроцитах также мембранная АТФ-аза принимает участие в процессах транспорта глюкозы. Однако она отличается от АТФ-азы мозговой ткани по своей реакции на глутатион. В мозговой ткани глутатион снимает

подавляющий эффект строфантина и тиоловых реагентов на транспорт глюкозы, а в эритроцитах — нет. Помимо того, глутатион не предотвращает гемолиза, вызванного этими веществами. Не исключена возможность, что АТФ-аза эритроцитов по некоторым своим свойствам отличается от таковой мозговой ткани. Гемолитический эффект строфантина и тиоловых реагентов надо объяснить изменением активности мембранной АТФ-азы. Подавление активности этого фермента приводит к нарушению осмотического равновесия эритроцитов и к их разрушению, так как установлено, что этот фермент активно регулирует трансмембранный перенос ионов калия и натрия. Нарушение механизма, регулирующего транспорт этих катионов, приводит к изменению осмотического давления внутри эритроцитов и к гемолизу. Благоприятный эффект добавленного АТФ в присутствии строфантина и тиоловых реагентов в отношении устранения их гемолитического действия объясняется его защитным действием на мембранную АТФ-азу и снабжением энергии, необходимой для регуляции транспорта ионов через клеточную мембрану. Это приводит к сохранению осмотического равновесия между внешней и внутренней средой эритроцитов и предотвращает их разрушение.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 15/VI 1966 г.

Ա. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Չ. Ս. ՃՇՄԱՐԻՏՅԱՆ և Ժ. Ս. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ

ԷՐԻՏՐՈՑԻՏՆԵՐԻ ԿՈՂՄԻՑ ԳԼՅՈՒԿՈՋԱՅԻ ԿԼԱՆՄԱՆ ՀԱՐՅԻ ՇՈՒՐՋԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Փորձերը դրվել են սպիտակ առնետների լվացված էրիտրոցիտների վրա: Ուսումնասիրվել է ադենիննուկլեոտիդների (ԱՏՖ, ԱԴՖ և ԱՄՖ), գլյուտաթիոնի (վերականգնված), ստրոֆանտինի և սուլֆհիդրիլ խմբերը բլոկադայի ենթակող նյութերի (պարաբլորմերկուրիբենզոական թթու-ՊՔՄԲ և մալեինաթթվի N-էտիլ-իմիդի — ՆէՄ) ազդեցությունը էրիտրոցիտների կողմից գլյուկոզայի կլանման վրա:

Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ ԱՏՖ-ն արագացնում է գլյուկոզայի կլանումը արյան կարմիր գնդիկների կողմից, իսկ ԱԴՖ-ն և ԱՄՖ-ն ազդեցություն չունեն այդ պրոցեսի վրա:

Ստրոֆանտինը, ՊՔՄԲ-ը և ՆէՄ-ը ճնշում են գլյուկոզայի կլանումը էրիտրոցիտների կողմից և նպաստում նրանց քայքայմանը (հեմոլիզ):

Գլյուտաթիոնը չի վերացնում վերը նշված նյութերի արգելակող և հեմոլիտիկ ազդեցությունը էրիտրոցիտների վրա: ԱՏՖ-ն լրիվ վերացնում է այդ նյութերի հեմոլիտիկ ազդեցությունը, ինչպես նաև նրանց կողմից գլյուկոզայի կլանման վրա ունեցած արգելակող ազդեցությունը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Оганесян А. С., Демирчян А. А., Чобанян К. А. В кн.: Некоторые вопросы патологии эндокринной системы. Ереван, 1965.
2. Dawson A. C. and Widdas W. F. J. Physiol., 1963, 168, 644.
3. Dunham E. T. and Cline J. M. J. Physiol., 1961, 156, 274.
4. Le Fevre P. G. J. Gen. Physiol., 1948, 31, 505.
5. Post S. L. and Albricht C. D. Membrane Transport and Metabolism, Eds. Kleinzeller A. A. and Kotyk E. E., Pragua, 1961.
6. Van Steveninek J., Weed R. J. and Rothstein A. J. Gen. Physiol., 1965, 48, 617.
7. Weed R. J., Eber J. and Rothstein A. J. Gen. Physiol., 1962, 45, 395.