

УДК 577.3:612.273.2

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСІВ ОКИСЛЮВАЛЬНОГО ФОСФОРИЛЮВАННЯ ПРИ ЦИРКУЛЯТОРНІЙ ГІПОКСІЇ В ТКАНИНАХ ПЕЧІНКИ ТА МОЗКУ БІЛИХ ЩУРІВ

А. І. Назаренко

*Відділ порівняльної патології
Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ*

Дихання тканин при різних формах гіпоксії є предметом вивчення багатьох дослідників. За останній час увага до цих питань зросла в зв'язку з широким дослідженням мітохондріальних фракцій, з того часу, як стало відомо, що саме мітохондрії являються тими утвореннями, в яких протікають процеси тканинного дихання і спряженого з ним окисного фосфорилування. Інтенсивність дихання і здатність до окислювального фосфорилування є найважливішим показником функціонального стану виділених мітохондрій, які з усіх субклітинних структур є найбільш уразливими до різного роду подразнень.

Ми вивчали окислювальне фосфорилування печінки і мозку білих щурів при короточасних порушеннях кровообігу. Відомо, що недостатність кровообігу, незалежно від шляхів забезпечення термінальних реакцій, викликає стан гіпоксії органа чи якоїсь частини тканини. За даними Лейтеса та ін. [2], порушення доставки кисню тканинам при циркуляторних змінах пов'язане зі зменшенням об'ємної швидкості кровоструменя в тканинних капілярах, і постачання тканинам кисню погіршується внаслідок ослаблення дифузії кисню через патологічно змінені мембрани в ішемізованих органах.

Методика досліджень

Досліди провадилися на дорослих білих щурах вагою від 150 до 170 г. Мітохондрії печінки та мозку одержували методом фракційного центрифугування в рефрижераторній центрифугі ЦРР-1 за загальноприйнятою методикою; як середовище виділення застосовували 0,25 М розчин сахарози. Споживання кисню суспензією мітохондрій вимірювали в апараті Варбурга в атмосфері повітря. Кількість естерифікованого неорганічного фосфату визначали за зменшенням його в інкубаційному середовищі за методом Фіске-Субароу. Інтенсивність окислювального фосфорилування визначали за коефіцієнтом фосфорилування Р/О. Одержані в експерименті величини переобчислювали на 10 мг білка, який визначали біуретовим методом. Інкубаційне середовище містило (в мікромолях): для печінки — АТФ=5, K_2HPO_4 =45, MgO_4 =15, глюкоза=45, сукцинат Na=25; для мозку — $MgCl_2$ =8, KCl=100, АТФ=4, K_2HPO_4 =40, сукцинат Na=30, глюкоза=110; в обидва середовища додавали по 0,5 мг кристалічної гексокінази і по 0,4 мл суспензії мітохондрій.

Результати досліджень та їх обговорення

Перша частина наших досліджень складалася з двох серій дослідів. У першій серії у щурів викликали гостру короточасну ішемію печінки перетяжкою ворітної вени та печінкової артерії. З цією метою

під легким ефірним наркозом розтинали черевну порожнину і накладали лігатури на вищевказані судини. Потім черевну порожнину зашивали, а лігатури затягували з допомогою виведених назовні її кінців. Через різні проміжки часу після перетяжки проводили екстирпацію печінки для одержання мітохондрій. Дані цієї серії дослідів представлені на рис. 1. У контрольних тварин споживання кисню суспензією мітохондрій печінки становило $5,1 \pm 0,1$ мкАТ/10 мг білка,

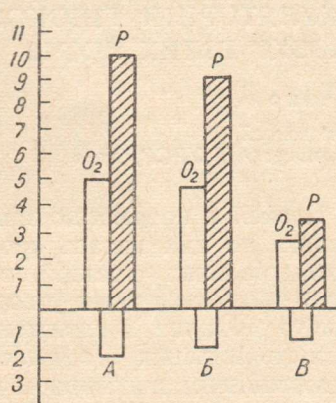


Рис. 1. Динаміка змін окислювального фосфорилування в мітохондріях печінки білих щурів при її гострій циркулярній гіпоксії.

По вертикалі: вгорі мкАТ/10 мг білка, внизу — Р/О. По горизонталі: А — контроль, Б — 10—15-хвилинна ішемія, В — 20—25-хвилинна ішемія.

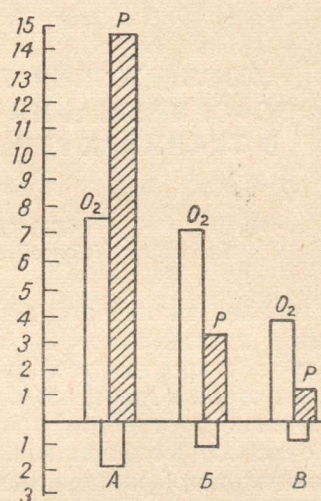


Рис. 2. Динаміка окислювального фосфорилування в мітохондріях мозку білих щурів при його гострій циркуляторній гіпоксії.

Умовні позначення див. рис. 1.

кількість неорганічного фосфату — $10,2 \pm 0,2$ мкАТ/10 мг білка, коефіцієнт фосфорилування Р/О рівний $2,0 \pm 0,3$. Через 5 хв після перетяжки судин ці величини виявляли незначні зміни, що не виходили за межі коливань у контрольних тварин.

Мітохондрії, виділені через 10—15 хв, інтенсивно поглинають кисень, але фосфорилування виявляється дещо зниженим ($9,4 \pm 0,8$ мкАТ/10 мг білка), коефіцієнт Р/О знижується до $1,8 \pm 0,2$, тобто має місце деяке роз'єднання окислення і фосфорилування. Через 20—25 хв після перетяжки судин споживання кисню мітохондріями печінки знижувалося до $2,9 \pm 0,1$ мкАТ/10 мг білка, кількість неорганічного фосфату становила $3,7 \pm 0,3$ мкАТ/10 мг білка, а коефіцієнт фосфорилування знижувався до $1,3 \pm 0,2$.

У другій серії у щурів перетягували лігатурами сонні артерії; мітохондрії виділяли з великих півкуль мозку. Дані цієї серії дослідів наведені на рис. 2. В нормі споживання кисню мітохондріями великих півкуль становить $8,0 \pm 0,1$ мкАТ/10 мг білка, кількість неорганічного фосфату — $15,3 \pm 0,1$ мкАТ/10 мг білка, коефіцієнт Р/О — $1,9 \pm 0,2$. Через 5—10 хв після перетяжки сонних артерій тканинне дихання і фосфорилування в мітохондріях мозку залишаються досить високими, але значно зменшується кількість неорганічного фосфату (до $3,5 \pm 0,4$ мкАТ/10 мг білка), різко знижується Р/О (до 0,4). Через 25—30 хв значно зменшується і споживання кисню мітохондріями, і кількість неорганічного фосфату, а коефіцієнт фосфорилування падає до 0,3.

Отже, проведені серії дослідів показали, що гостре короточасне порушення кровообігу (на протязі 25—30 хв) викликає значне зниження споживання кисню і фосфорилування в мітохондріях печінки і мозку. Нам здається мало вірогідним, що така короточасна ішемія, яку ми мали в наших дослідах, викликала значне ушкодження мітохондрій, хоч у ряді праць, зокрема Ленінгсом [4], показано, що навіть 15-хвилинна ішемія може викликати ушкодження мітохондрій відповідної тканини.

Можливо, як на це вказує Самойлов [3], значне зниження показників тканинного дихання і спряженого з ним окислювального фосфорилування може бути в якійсь мірі пояснене тим, що окислювальні процеси в самій клітині відбуваються не тільки в мітохондріях, але і в інших цитоплазматичних структурах, і процеси окислення, починаючись в гіалоплазмі, можуть закінчуватись не тільки в мітохондріях, але і в мікросомах та в інших внутріклітинних утвореннях. Навряд чи можна також вбачати прояв якихось адаптивних якостей тканин у наших дослідах, тим більше, що деякі автори, зокрема Стрікленд [5] та ін., розглядають зниження інтенсивності дихання в мітохондріях не як адаптивну реакцію організму чи окремої тканини в умовах гіпоксії, а як один із проявів порушень, що виникають в організмі при обмеженій доставці кисню. Барбашова [1] вказує, що зниження окислювального фосфорилування в гострому періоді гіпоксії тканин пояснюється тим, що вони переходять на аноксидотичний тип обміну.

Друга частина наших досліджень стосувалася вивчення змін окислювального фосфорилування в мітохондріях печінки і мозку білих щурів при крововтраті і наступній клінічній смерті. Тварин обезкровлювали вільним витіканням крові із стегових артерій. Мітохондрії печінки та мозку досліджували як у ході самого кровопускання, так і через різні проміжки часу після настання клінічної смерті (за початок клінічної смерті вважали повну відсутність дихання і роботи серця). Дані цієї частини досліджень представлені в таблиці.

Окислювальне фосфорилування в мітохондріях печінки і мозку білих щурів через різні проміжки часу після смерті від крововтрати (в мкАТ/10 мг білка)

Умови досліду	Печінка			Мозок		
	O ₂	P	P/O	O ₂	P	P/O
Контроль	5,1 ± 0,1	10,2 ± 0,2	2,0 ± 0,3	8,0 ± 0,1	15,3 ± 0,1	1,9 ± 0,2
10—15 хв смерті	5,1 ± 0,1	6,6 ± 0,2	1,4 ± 0,1	8,0 ± 0,1	4,2 ± 0,4	1,3 ± 0,1
15—20 хв смерті	2,3 ± 0,1	2,1 ± 0,1	0,9 ± 0,1	3,5 ± 0,2	2,8 ± 0,1	0,8 ± 0,02
25 хв смерті	0,7 ± 0,01	0,5 ± 0,01	0,7 ± 0,01	0,8 ± 0,03	0,3 ± 0,01	0,4 ± 0,02

Як правило, величини тканинного дихання і спряженого з ним окислювального фосфорилування в мітохондріях печінки і мозку, виділених у процесі кровопускання, не виходили за межі коливань, спостережуваних у контрольних тварин. Але в самому кінці кровопускання і в перші хвилини після нього відзначається деяке порушення спряженості окислення і фосфорилування, коефіцієнт фосфорилування P/O знижується з 2,0 ± 0,3 до 1,4 ± 0,1 для печінки і з 1,9 ± 0,2 до 1,3 ± 0,1 для мозку.

Через 15—20 хв після настання клінічної смерті і споживання кисню, і фосфорилування в мітохондріях печінки і мозку значно знижуються (див. таблицю). Через 25—30 хв усі ці показники практично знижуються майже до нуля.

Отже, збереження показників окислювального фосфорилування в мітохондріях печінки і мозку на досить високому рівні при дії такого екстремального фактора, яким є смертельна крововтрата, свідчить про певну стійкість ферментативних систем. Це, з нашої точки зору, може мати деяке значення в процесі відновлення життєдіяльності органів і тканин при оживленні організму.

Висновки

1. Гостра короткочасна ішемія печінки і мозку викликає значне зниження тканинного дихання і спряженого з ним окислювального фосфорилування в мітохондріях, виділених з цих органів.

2. У процесі кровопускання показники окислення і фосфорилування в мітохондріях печінки і мозку перебувають у межах норми.

3. У перші 10—15 хв з моменту настання клінічної смерті окислення і фосфорилування в мітохондріях печінки і мозку зберігаються на високому рівні, значно знижуючись через 25—30 хв.

Література

1. Барбашова З. І.—В сб.: Кислор. режим организма и его регулирование, Киев, 1966, 156.
2. Лейтес С. М., Лаптева Н. И.—Очерки по патофизиол. обмена веществ и эндокринной системы, М., 1967.
3. Самойлов П. М.—Вопросы мед. химии, 1965, X, 4, 3.
4. Lennings R., Kaltenbach J., Sommers H.—Arch. Pathol., 1967, 84, 1, 15.
5. Strikland E., Ac Kerman E., Anthony A.—Aerospace med., 1961, 32, 8, 746.

Надійшла до редакції
27.II 1969 р.

INVESTIGATION OF THE PROCESSES OF OXIDATIVE PHOSPHORYLATION DURING CIRCULATORY HYPOXY IN THE LIVER AND BRAIN TISSUES OF ALBINO RATS

A. I. Nazarenko

*Department of Comparative Pathology, the A. A. Bogomoletz
Institute of Physiology, Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev*

Summary

The results are presented of investigations carried out on adult albino rats. Oxygen intake (by Warburg) and oxidative phosphorylation were studied in mitochondria of the liver and brain with acute ischemia of the liver and brain caused by ligation of the corresponding vessels as well as with lethal bloodletting and clinical death followed it.

The data obtained showed that acute circulatory hypoxia of the liver and brain causes a considerable decrease on oxygen intake and oxidative phosphorylation in mitochondria of these organs.

In the process of bloodletting the values of oxidation and phosphorylation of the liver and brain mitochondria connected with the former are within the limits of norm.

During the first 10—15 min of clinical death the oxidation and phosphorylation in the liver and brain mitochondria is preserved at a high level, considerably decreasing in 25—30 min.