

ПОРІВНЯЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ТКАНИННОГО ДИХАННЯ ГЕТЕРОТЕРМНИХ І ГОМОЙОТЕРМНИХ ТВАРИН ПРИ ГІПОКСІЇ

Н. М. Шумицька, Є. В. Колпаков

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

Одним з важливих питань, що виникають при вивченні процесу пристосування організму тварин і людини до гіпоксичного середовища, є питання про шляхи та механізм його здійснення. Чи досягається підвищена толерантність до гіпоксії шляхом компенсаторних змін дихання, кровообігу та гемопоезу, або в адаптаційний процес на якійсь стадії включаються й самі тканини, які набувають, як гадають, підвищену функціональну здатність поглинання кисню при зниженому pO_2 .

Якщо одні дослідники [12, 18, 19, 27, 30, 62], не заперечуючи повністю значення тканинних факторів, основну роль в адаптації організму до гіпоксії відводять системним пристосувальним змінам, то інші [4, 6, 31, 41, 42, 52, 53, 54] великого значення надають тканинним факторам адаптації. Вони підкреслюють необхідність вивчення цього питання, висунутого ще в працях старих авторів [14, 29, 32, 37], але не з'ясованого досі достатньою мірою.

Ми вивчали питання про можливу роль тканинних факторів в адаптації до гіпоксії в умовах тривалої попередньої експозиції піддослідних тварин в барокамері з далшим порівняльним дослідженням дихання їх тканин і тканин контрольних тварин в гіпоксичних сумішах *in vitro* в апараті Варбурга.

Основним об'єктом дослідження служили зимосплячі ховрашки південно-українського степу і для порівняння — білі лабораторні щури.

Ми брали до уваги екологічні особливості тварин досліджуваних видів; зокрема, ховрашки, як відомо, характеризуються непостійним рівнем метаболізму залежно від сезону (зимова і літня сплячка). Крім того, життя в глибоких норах, у середовищі із змінним вмістом кисню зумовлює час від часу вплив гіпоксичних умов на організм.

Методика досліджень

Досліди проведені на представниках гетеротермних (45 крапчастих ховрашків *Cittellus suslica*, вагою 150—320 г) і гомойотермних (85 білих щурів лінії Вістар, вагою 120—265 г) гризунів.

Інтактних щурів після обезголовлення використали для порівняльного визначення інтенсивності споживання кисню їх тканинами, підготовленими у вигляді суспензій та шматочків у газовому середовищі *in vitro*, що містить 1,7; 21 і 100% кисню. Шматочки органів (великих півкуль головного мозку і печінки) вирізали по можливості однаковими за величиною, формою і локалізацією.

Ховрашків і щурів піддослідних груп після попереднього гематологічного обслідування (гематокрит, гемоглобін) «піднімали» в барокамері на умовну «висоту» 7,5—8,5 тис. м (відповідає 8—7% кисню), де вони перебували безперервно у таких

виражених гіпоксичних умовах протягом 180 год. Щодня для дачі корму і води та очистки кліток тварин «опускали» на 30 хв. Сусликів і шурів контрольних груп утримували в клітках у звичайних умовах віварія.

Через 16—18 год після закінчення експозиції в барокамері піддослідних, а також контрольних ховрашків і шурів піддали повторному гематологічному обстеженню, а потім вмертвляли.

Інтенсивність поглинання кисню *in vitro* вирізаними шматочками великих півкуль, мозочка, печінки, нирки, серцевого м'яза і діафрагми піддослідних і контрольних тварин досліджували одночасно в апараті Варбурга в гіпоксичному середовищі, що містить 1,3—1,8% кисню.

Результати досліджень

У дослідах на інтактних тваринах ми виявили, що при високому вмісті кисню в газовому середовищі в респірометрах Варбурга (100 і 21%) істотної різниці в споживанні кисню тканинами у цих середовищах не виявлено. Тканини дихають майже однаково. Лише при значному зниженні вмісту кисню *in vitro* до рівня, близького до «критичного» для життєдіяльності клітини [35] — 1,7% кисню в наших

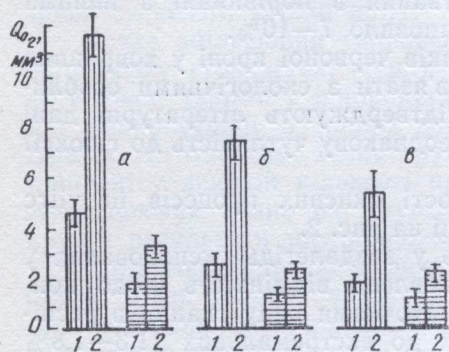


Рис. 1. Тканинне дихання великих півкуль головного мозку і печінки (1 — шматочки і 2 — суспензії) інтактних білих шурів *in vitro* у фосфатно-сольовому буфері (рН 7,2) з глюкозою в різних за вмістом кисню газових сумішах ($M \pm m$): а — 100%, б — 21%, в — 1,7% кисню. По вертикалі — Q_{O_2} в мм³ O_2 /год/мг сухої ваги тканини, по горизонталі — досліджувані тканини: вертикальна штриховка — мозок, поперечна — печінка.

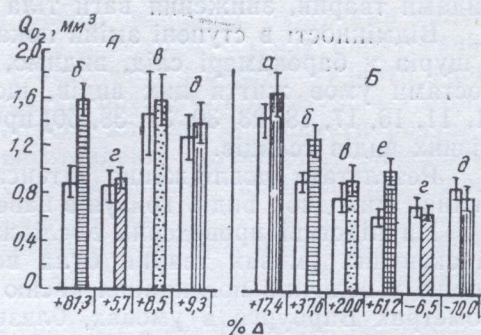


Рис. 2. Споживання кисню *in vitro* в гіпоксичному середовищі (1,3—1,8% O_2) шматочками тканин тварин, експонованих у барокамері протягом 180 год на «висоті» 7,5—8,5 тис. м ($M \pm m$).

А — крапчасті ховрашки, Б — білі шури. По вертикалі — Q_{O_2} в мм³ O_2 /год/мг сухої ваги тканини, по горизонталі — досліджувані тканини: а — мозочок, б — великі півкулі головного мозку, в — нирка, г — печінка, д — діафрагма, е — м'яз серця, білі стовпчики — контроль. Цифри по горизонталі — різниця в процентах до вихідних даних у контрольних тварин.

дослідах, що відповідає 12 мм рт. ст., інтенсивність тканинного дихання різко знижується.

Ці дані узгоджуються з результатами досліджень тканинного дихання в різних за вмістом кисню газових сумішах, описаними іншими авторами [4, 5, 15, 20, 21, 35, 36, 55, 59, 63, 66].

Крім того, інтенсивність споживання кисню шматочками тканин мозку і печінки в усіх досліджених нами газових сумішах була значно менш виражена, ніж суспензій, виготовлених з тих самих органів (відмінність між ними статистично достовірна, $p < 0,001$; див рис. 1).

Це можна віднести за рахунок стимулюючого впливу продуктів розпаду, які утворюються у великій кількості при виготовленні суспензій, що перевертає результати дослідів.

При оцінці одержаних результатів ми враховували, що інтенсивність споживання кисню шматочками є величиною умовною, яка повністю не виражає дихання тканини [3, 4].

Проте, на цьому тканинному препараті в наших дослідах виявилось можливим помітити різницю в інтенсивності тканинного дихання шматочків тканин, взятих у контрольних і адаптованих до гіпоксії тварин.

Дослідження, проведені на піддослідних тваринах, показали, що перебування ховрашків і щурів в умовах тривалої гіпоксії в барокамері супроводжується появою чітких ознак адаптації до неї внаслідок зміни гемопоезу. Це позначається у значному збільшенні в периферичній крові кількості еритроцитів (показник гематокриту) і вмісту гемоглобіну щодо вихідних даних. Проте ступінь цих змін різний у представників досліджених нами гризунів, незважаючи на схожі умови утримання в барокамері. Особливо виразні зміни червоної крові були у щурів, вміст гемоглобіну у яких збільшився на 30,6%, а показник гематокриту підвищився на 31,4%. У ховрашків приріст гемоглобіну не перевищував 8,2%, і показник гематокриту збільшувався лише на 5,7%.

Зміни ваги тіла були приблизно однаковими. У ховрашків і щурів, найбільш стійких до кисневого голодування в порівнянні з іншими видами тварин, зниження ваги тіла становило 7—10%.

Відмінності в ступені зміни показників червоної крові у ховрашків і щурів у барокамері слід, видимо, пов'язати з екологічними особливостями умов життя цих видів, що підтверджують літературні дані [1, 11, 16, 17, 18, 23, 30, 31, 38, 50] про неоднакову чутливість до гіпоксії різних видів ссавців.

Результати дослідження інтенсивності окисних процесів *in vitro* тканин цих двох видів гризунів наведені на рис. 2.

На підставі проведених досліджень у заздалегідь експонованих у гіпоксичних умовах тварин була встановлена відмінність щодо контролю у величині поглинання кисню шматочками ряду тканин в респірометрах Варбурга в умовах, близьких до екстремальних (1,3—1,8% O_2 , що приблизно відповідає парціальному тиску кисню 10—13 мм рт. ст.).

Так, у адаптованих до гіпоксії тварин шматочки тканин, найбільш чутливих до кисневого голодування, а саме, великих півкуль головного мозку ховрашків на 81,3% і щурів на 37,6% поглинали кисню більше, ніж ті самі тканини контрольних тварин (відмінність статистично достовірна, відповідно: $p < 0,001$; $0,05 < p > 0,02$).

Шматочки серцевого м'яза щурів в аналогічних умовах досліду відрізнялись також підвищеним тканинним диханням (на 61,2%) в порівнянні з такими ж тканинами в контролі (відмінність статистично достовірна; $0,01 < p > 0,001$).

Показники інтенсивності споживання кисню шматочками інших тканин, адаптованих до гіпоксії тварин: печінка, нирка, м'яз діафрагми крапчастих ховрашків і мозочок, нирка, печінка і м'яз діафрагми щурів в аналогічних умовах досліду перебували в близьких межах до даних, одержаних на контрольних тваринах (відмінність між ними статистично недостовірна).

Обговорення результатів досліджень

Ми виявили деяке збільшення інтенсивності споживання кисню тканинами органів, особливо чутливих до кисневого голодування: великі півкулі головного мозку (ховрашки, щури), серцевий м'яз (щури) у адаптованих до гіпоксії тварин. Більш чіткі результати одержані на ховрашках. Ці зміни тканинного дихання встановлені в наших дослі-

дах в різко вираженому гіпоксичному середовищі (1,3—1,8% кисню) в апараті Варбурга.

Ще в 1908, 1914 рр. Варбург [64, 65], а згодом Кларк та ін. [34] висловили припущення про те, що споживання кисню в тканинах адаптованих до гіпоксії тварин може бути вищим, ніж у контролі тільки при зменшенні його pO_2 нижче критичного рівня.

Деякі автори [2, 7, 21, 43, 56, 63] виявили в тканинах адаптованих до гіпоксії тварин збільшення споживання кисню, тоді як інші [34, 35] спостерігали його зменшення.

Показово, що при вивченні тканинного дихання в газових сумішах з низьким вмістом кисню (1,5; 2; 3; 12%) ряд авторів відзначив збільшення тканинного дихання, тоді як при застосуванні газових сумішей з оптимальним вмістом кисню (21 і 100%) виявлене однакове з контролем споживання кисню [2, 12, 24, 34, 36, 59, 60, 63].

Проте не тільки склад газової суміші має визначальне значення для з'ясування споживання кисню ізольованими тканинами. Велику роль при цьому відіграє також характер самих препаратів (шматочки, зрізи, суспензії, мітохондрії).

Деяке збільшення споживання кисню великими півкулями головного мозку (ховрашки, щури) і серцевим м'язом (щури) адаптованих до гіпоксії тварин у порівнянні з контролем ми змогли виявити лише при використанні в наших дослідах як препарати шматочків тканин. При їх виготовленні менше руйнуються клітини. Продукти розпаду, утворені у великій кількості при виготовленні суспензій, виявляють стимулюючий вплив на інтенсивність тканинного дихання, що перекручує результати дослідів [8, 9, 13, 20, 49, 61].

Крім того, внаслідок використання в дослідах шматочків тканин створюються умови, близькі до екстремальних, коли значно зменшується поверхня стикання кисню з клітинами в порівнянні з суспензіями, і внаслідок цього різко знижується градієнт дифузії кисню, що призводить до зниження pO_2 в глибині шматочків до рівня, близького до «критичного».

Як відомо з літератури, коефіцієнт дифузії кисню в тканині дуже невеликий. Він неоднаковий для різноманітних тканин у тварин різних видів. Його коливання становлять від $1,1 \times 10^{-4}$ до 4×10^{-8} $см^2/сек^{-1}$ [25, 40, 44, 45, 46, 48, 51, 58].

Останнім часом висловлюється думка, що зміну інтенсивності тканинного дихання при адаптації тварин до хронічної гіпоксії слід віднести за рахунок посилення активності окисних ферментів, зокрема цитохромоксидази.

Проте, літературні дані з цього питання досі суперечливі [2, 3, 10, 12, 22, 28, 34, 35, 39, 47, 57].

Висновки

Проведені нами дослідження показали, що в процесі адаптації гризунів (ховрашки, щури) до гіпоксичної гіпоксії в барокамері разом з пристосувальними змінами при визначенні тканинного дихання *in vitro* в умовах, близьких до екстремальних, можна спостерігати деяке підвищення поглинання кисню в шматочках органів, особливо чутливих до кисневого голодування (великі півкулі, серцевий м'яз).

Проте, для більш повного з'ясування цього дискусійного питання необхідні далі дослідження в різних варіантах дослідів, включаючи експерименти на видах тварин, що мешкають на високогір'ї.

Література

1. Барбашова З. И.—Матер. к пробл. акклимат. к низким парц. давл. кислор., Л., 1941.
2. Барбашова З. И.—В сб.: Кислор. терапия и кислор. недостат., К., 1952, 85.
3. Барбашова З. И.—В сб.: Матер. по эвол. физиол., 1956, 1, 12.
4. Барбашова З. И.—Акклимат. к гипоксии и ее физиол. механ., М.—Л., 1960
5. Барбашова З. И.—В сб.: Кислор. режим организма и его регулir., К., 1966, 156.
6. Барбашова З. И.—Космич. биол. и мед., 1969, 4, 6.
7. Данилов М. Г.—В сб.: Труды ВМА им. Кирова, 1941, XXXI, 59.
8. Ємельянов М. О., Гаріна У. О.—Укр. біохім. журн., 1970, 1, 50.
9. Зелінський С. П. Фізіол. журн. АН УРСР, 1955, 1, 46.
10. Иванов К. П.—Кислор. голод. и темпер. тела, Л., 1968.
11. Калабухов Н. И.—Зоол. журн., 1937, 16, 3, 483.
12. Крепс Е. М., Вержбинская Н. А., Ченькаева Е. Ю., Чирковская А. В., Гавурина Ц. К.—Физиол. журн. СССР, 1956, XLII, 6, 456.
13. Палладіна Л. І., Гудіна Г. М.—Укр. біохім. журн., 1956, XXVIII, 3, 329.
14. Пашутин В. В.—Лекции по общей патол., СПб., 1881, II.
15. Свадковська Н. Ф., Комова А. Д.—Укр. біохім. журн., 1967, 39, 4, 357.
16. Сиротинин М. М.—Медичн. журн. АН УРСР, 1940, 10, 5, 1415.
17. Сиротинин М. М.—Медичн. журн. АН УРСР, 1951, 20, 6, 25.
18. Сиротинин Н. Н.—В сб.: Кислор. недостат., К., 1963, 3.
19. Сиротинин М. М.—Фізіол. журн. АН УРСР, 1965, XI, 3, 283.
20. Фролькис В. В., Богацкая Л. Н., Фролькис Р. А.—В сб.: Кислор. режим организма и его регулir. (матер. симпоз.), К., 1966, 198.
21. Хавкина И. В.—V научн. совещ. по эвол. физиол., посв. памяти Л. А. Орбели (Тез. докл.), Л., 1968, 264.
22. Ченькаева Е. Ю., Дегтярева Г. Ф.—Физиол. журнал СССР, 1966, 52, 6, 741.
23. Шумицька Н. М.—В сб.: Кислор. недостат., К., 1963, 29.
24. Шумицька Н. М.—Фізіол. журн. АН УРСР, 1966, XII, 334.
25. Эпштейн И. М.—В сб.: Полярограф. определ. кислорода в биол. объектах, К., 1968, 246.
26. Barbashova Z.—In: Handbook of Physiol., Adapt. to Environment, Wash., 1964, 4, 37.
27. (Barcroft J.) Баркрофт Дж.—Основн. черты архитект. физиол. функций, М.—Л., 1937.
28. Beischer D.—In: Man's Dependence Earthly Atmosphere., N. Y., 1962, 166.
29. Bert P.—La pression barometr. recherches de physiol. exper., Paris, 1878.
30. Bullard R., Kollias J.—Fed. Proc., 1966, 25, 4, 1288.
31. Burlington R., Maner I., Sidel C.—Fed. Proc., 1969, 28, 3, 1440.
32. Campbell I.—J. Physiol. (London), 1927, 63, 325.
33. Chance B., Williams G.—J. Biol. Chem., 1955, 217, 383.
34. Clark R. et al.—Am. J. Physiol., 1954, 177, 2, 207.
35. Duckworth M.—J. Physiol. (London), 1961, 156, 3, 603.
36. Frenn I., Anthony A.—Am. J. Physiol., 1961, 200, 3, 527.
37. Haldane I.—Physiol. Rev., 1927, 7, 363.
38. Hall F.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1964, 116, 1029.
39. Hartmann G.—Intern. Zeitschr. f. Vitaminforsch., 1967, 37, 3, 381.
40. Hill A.—Proc. Roy. Soc. (London), 1928, 104, 39.
41. Hurtado A.—XXI Intern. Congr. Physiol. Sci., Sympos., Buenos-Aires, 1959, 228.
42. Hurtado A.—In: Handbook of Physiol., Adapt. to Environment, Wash., 1964, 4, 54, 843.
43. Kaunitz H., Selzer L.—Zeitsch. f. d. ges. exper. Med., 1938, 103, 13, 4, 654.
44. Krogh A.—J. Physiol., 1918/1919, 52, 391.
45. Krogh A.—Anatom. a. Physiol. der Capillaren. Berlin, 1924.
46. Longmuir I.—Biochem. J., 1960, 76, 225.
47. Lübberts D.—Scand. J. Clin. a. Lab. Invest., 1968, 22, 102, II/A.
48. MacDougall I., McCabe M.—Nature, 1967, 215, 5106, 1173.
49. (McIlwain H.) Мак Ильвейн Г.—Биохимия и центр. нервн. сист., М., 1962.
50. Morrison P.—Symp. Zool. Soc. (London), 1964, 13, 49.
51. Opitz E., Schneider M.—Ergebn. Physiol., 1950, 46, 126.
52. Poupá O., Krofta K., Procházka I., Chvátil M.—Physiol. Bohemoslov., 1965, 14, 233.
53. Reynafarje B., Morrison P.—J. Biol. Chem., 1962, 237, 9, 2861.
54. Reynafarje B., Velásquez T.—Fed. Proc., 1966, 25, 4, 1397.
55. Skolnik I., Takaes L., Szende E.—Nature (Engl.), 1966, 209, 5020, 305.

56. Sundstroem E., Michaels G.—The Adrenal Cortex in Adaptation to Altitude, Climate a. Cancer, Univ. California Press, 1942, 409.
57. Tappan D., Reynafarje B., Potter R., Hurtado A.—Amer. J. Physiol., 1957, 190, 1, 93.
58. Thews G.—Pflüg. Arch. Ges. Physiol., 1960, 271, 227.
59. Ullrick W., Whitehorn W.—Am. J. Physiol., 1952, 171, 407.
60. Ulrick W., Whitehorn W., Brennan B., Krone I.—J. Appl. Physiol., 1956, 9, 49.
61. (Umbreit V., Burris R., Stauffer J.) Умбрейт В. В., Буррис Р. Х., Штауффер Д. Ф.—Манометрич. методы изуч. ткан. обмена, 1951, М.,
62. (Van Liere E., Stickney C.) Ван Лир Э., Стикней К.—Гипоксия, М., 1967.
63. Whitehorn W., Ullrick W., Krone I., Brennan B.—Fed. Proc., 1953, 121, 154.
64. Warburg O.—Zeitschr., physiol. chem., 1908, 57, 1.
65. Warburg O.—Zeitschr. physiol. chem., 1914, 14, 264.
66. Warburg O., Kubowitz F.—Biochem. Zeit., 1929, 214, 5.

Надійшла до редакції
18.VI 1970 р.

COMPARATIVE STUDY OF TISSUE RESPIRATION OF HETEROTHERMAL AND HOMOIO THERMAL ANIMALS DURING HYPOXIA

N. M. Shumitskaya, E. V. Kolpakov

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

Summary

The given investigation was carried out in a comparative aspect with the representatives of heterothermal (*Citellus suslicus* from the South-Ukrainian steppe) and homoiothermal rodents (albino rats of the Vistar line).

In animals under conditions of preliminary exposition to hypoxia in the altitude chamber (180 hrs) at a height of 7.5—8.5 thousand metres the haemapoiesis and respiration of pieces of their tissues (cerebral hemispheres, cerebellum, liver, kidney, myocardium and diaphragm muscle were studied in hypoxia mixtures in the Warburg apparatus (gas medium with 1.3—1.8 of O₂).

In rodents adapted to hypoxia in parallel to the changes in haemapoiesis (especially in rats, to a less extent in gophers), when determining the respiration intensity of isolated tissues under conditions close to extremal ones, some increase was found in oxygen consumption by the pieces of tissue most sensitive to oxygen deficiency: cerebral hemispheres (gophers and rats) and myocardium (rats).