

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Научно-теоретический журнал • Основан в 1955 г. • Выходит 1 раз в 2 месяца

Том 31, № 3, май—июнь, 1985

Киев Наукова думка

УДК 612.015.273.127.3

В. А. Березовский, О. А. Бойко, Л. А. Курбаков, Т. Н. Гридина

К ВОПРОСУ О МЕХАНИЗМЕ ФОРМИРОВАНИЯ РАЗЛИЧИЙ В ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ КРЫС К ОСТРОЙ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Показано [3], что для печени высокоустойчивых к гипоксической гипоксии крыс характерна повышенная активность ферментов азотистого обмена в «узле» глютаминовой кислоты, сопряженном с циклом трикарбоновых кислот. У низкоустойчивых животных выявлено более интенсивное течение реакций в «узле» лимонной кислоты [4], рассматриваемой как переносчик ацетил-КоА в цитоплазму клетки, где он используется для образования жирных кислот [24]. Это свидетельствует о том, что соотношение интенсивности белкового и липидного обмена в печени высокоустойчивых к гипоксической гипоксии особей сдвинуто в сторону белкового обмена. Ограничение липогенеза, вероятно, касается, главным образом, депонированного жира, так как различия в активности цитратлиазной реакции других тканей, например легкого, высокоустойчивых и низкоустойчивых к гипоксической гипоксии крыс незначительны [4].

Многие исследователи связывают повышенную способность к жиरोотложению с гиперинсулинизмом. Синтез липидов стимулируется двуокисью углерода [9], удаление которой из организма осуществляется с участием карбангидразы [13].

Инсулин играет роль и в процессах мобилизации депонированного жира [15]. Наибольшая потеря массы при голодании приходится на жировую ткань (99 %), затем печень и почки (53—60 %), мышцы (25—30 %) и почти не касается сердца и нервной системы [10]. Индивидуальные вариации уровня инсулина генетически детерминированы [15, 21, 26] и варьируют в крови неинбредных мышей, в 30-кратном пределе [21].

Настоящая работа является продолжением изучения взаимосвязи особенностей метаболизма особей с высокой естественной резистентностью к гипоксической гипоксии с целью возможного ее прогнозирования. Исследовали взаимосвязь естественной устойчивости крыс к гипоксической гипоксии с факторами, прямо или косвенно влияющими на липогенез и липолиз в тканях.

Методика. Работа выполнена на 113 белых крысах-самцах в трех сериях опытов.

I серия ($n=37$). Крыс-самцов массой 150—200 г разделили при испытании под вакуумным колоколом на группы высокоустойчивых (ВГ) и низкоустойчивых (НГ) к гипоксической гипоксии особей по ранее описанной методике [2]. Сравнивали активность гидрирующей карбангидразы крови (Кф 4.2.1.1.) ВГ и НГ групп в условиях нормоксии и после двухчасового пребывания их в барокамере на условной высоте 9000 м над уровнем моря, создаваемой разрежением воздуха.

II серия ($n=53$). Интактным крысам-самцам массой 150—200 г внутримышечно вводили инсулин в дозе 25 ЕД на 100 г массы тела животного или физраствор в объеме, аналогичном вводимому инсулину, непосредственно перед «подъемом» в барокамеру на условную высоту 9000 м. Контролем служили животные, инъектированные инсулином или физраствором, но не подвергающиеся влиянию «высоты». Определяли активность гидрирующей карбангидразы крови животных всех групп и учитывали количество погибших после двухчасового пребывания на «высоте» 9000 м.

III серия ($n=23$). Исследования проведены на крысах-самцах массой 150—350 г с возрастной разницей 12—14 дней. В качестве метода выявления различий в интенсивности потери массы тела в экстремальных условиях использовали полное трехсуточное голодание. До начала голодания определили по ранее описанному методу [2] время выживания животных под вакуумным колоколом на условной высоте 12000 м. Учитывали массу тела крыс до и после полного трехсуточного голодания. Рассчитывали интенсивность потери массы тела (в процентах к исходному) и коэффициент корреляции между интенсивностью потери массы тела и временем выживания крыс на «высоте» 12000 м.

Активность гидрирующей карбангидразы крови во всех сериях опытов определяли модифицированным нами методом, в основе которого использован принцип [14]. Основная сущность модификации состоит в объективной (фотоэлектроколориметрической) оценке изменения цвета индикаторно-буферной системы. Проведена статистическая обработка данных [19].

Результаты и их обсуждение. Активность гидрирующей карбангидразы при нормоксии оказалась на 15,0 % ($p<0,05$) выше в крови ВГ, по сравнению с НГ, и составляла 1,18 и 2,05 А соответственно. Двухчасовое пребывание животных в барокамере на «высоте» 9000 м увеличивало различия в активности фермента крови ВГ и НГ до 20,4 % ($p<0,05$), повышая ее сильнее в группе ВГ (рис. 1).

Инъекции инсулина интактным животным в дозе 25 ЕД на 100 г массы тела оказались смертельными для 76,0 % крыс, пребывавших в течение 2 ч в барокамере, на условной высоте 9000 м. В живых осталось всего 24,0 %, что по ранее полученным данным [2] количественно соответствует доле ВГ особей в популяции (рис. 2). Та же степень гипоксии («высота» 9000 м; экспозиция 2 ч) не вызывала гибели животных, которым инъектировали не инсулин, а физраствор. Гибель не наблюдалась и среди животных, которым инъектировали инсулин, но не подвергавших воздействию сниженного парциального давления кислорода.

Активность гидрирующей карбангидразы крови гиперинсулинизированных крыс после двухчасового пребывания на «высоте» 9000 м оказалась в 3,8 раз ниже, чем гиперинсулинизированных, но не подвергавшихся влиянию «высоты» (0,45 и 1,70 А соответственно), и в 6 раз ниже, чем на «высоте», но без гиперинсулинизации (0,45 и 2,72 А соответственно). Инсулин отчетливо снижает активность фермента и в условиях нормоксии (от 1,91 до 1,70 А) через 2 ч после инъекции (рис. 3).

Более высокая активность гидрирующей карбангидразы крови ВГ крыс по сравнению с НГ как в условиях нормоксии, так и в разреженной атмосфере, очевидно, ограничивает участие двуокиси углерода в анаболических процессах и, прежде всего, в процессах липогенеза. Адаптивная же модификация обмена при пониженном парциальном давлении кислорода во вдыхаемом воздухе направлена на усиление катаболизма [18, 20].

В литературе имеются сообщения об отрицательном влиянии инсулина на выживание организмов в условиях гипоксической гипоксии [6]. Инсулин повышает потребление кислорода [17, 23], стимулируя анабо-

лические процессы и, прежде всего, липогенез из углеводов [15] через реакции образования жирных кислот с участием ацетил-КоА [25]. В этих условиях большая доля пировиноградной кислоты отвлекается на путь липогенеза. Но пировиноградная кислота необходима для переами- нирования с глютаминовой кислотой [5], в результате чего активируется глюконеогенез и создаются условия для синтеза гема, входящего в состав кислородтранспортных белков и ферментов — гемоглобина, мио- глобина, цитохромоксидаз [16]. Следовательно, на основании полученных ранее характеристик интенсивности обмена в «узлах» глютаминовой и лимонной кислот, сопряженных с циклом Кребса у ВГ и НГ крыс [3, 4], можно считать, что инсулин угнетает адаптивные антигипоксические

реакции, в основе которых преобладают ка- таболические процессы. Снижение активнос- ти гидрирующей карбангидразы крови после введения инсулина обуславливает, оче- видно, уменьшение экскреции двуокиси угле- рода из тканей, потребность в которой уве- личилась в условиях стимуляции анаболиче- ских процессов, так как активность этого фермента не отражает интенсивности газо- обмена через систему дыхания [12].

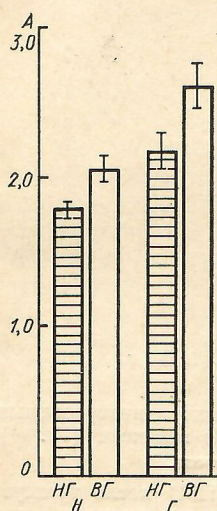


Рис. 1. Активность гидрирующей карбангидразы (А) крови ВГ (высоко-) и НГ (низкоустойчивых) к гипоксической гипоксии крыс в условиях нормоксии (Н) и острой гипоксической гипоксии (Г).

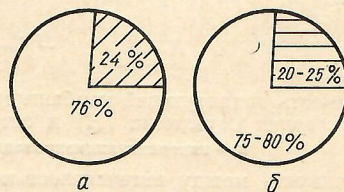


Рис. 2. Сопоставление доли крыс, выживших в условиях острой гипоксической гипоксии на «высоте» 9000 м; экспозиция — 2 ч (А), и отношение доли ВГ особей к общей численности обследованных животных (Б) в популяции и количества гиперинсулинизированных крыс.

А — гиперинсулинизированные крысы: без штриховки (76 %) — погибли в барокамере на «высоте» 9000 м; косые линии (24 %) — выжили на «высоте» 9000 м при экспозиции 2 ч. Б — популяция интактных крыс, испытанных на устойчивость к гипоксической гипоксии: без штриховки — доля низко- и среднеустойчивых крыс; прямые линии — доля высокоустойчивых к гипоксической гипоксии крыс в популяции.

В атмосфере пониженного парциального давления кислорода наблюдается длительное и стойкое повышение активности карбангидразы крови [1]. Двухчасовое пребывание гиперинсулинизированных крыс на «высоте» 9000 м не только не повышает (как это наблюдается у контрольных животных), но даже снижает активность гидрирующей карбангидразы крови. Снижение это более значительное, чем после введения инсулина в условиях нормоксии. Умеренная гипоксия на фоне гиперинсулинизации приводит к летальному исходу 76,0 % животных этой серии. Известно, что головной мозг в качестве энергетического источника использует, главным образом, глюкозу и глюкогенные аминокислоты [16]. Инсулин, стимулируя использование глюкозы периферическими тканями [15], создает общую гипогликемию и снижает обеспеченность мозга глюкозой [18]. В условиях гипоксической гипоксии, когда уровень инсулина в крови снижается, а влияние гормонов надпочечников становится преобладающим [23], липолиз усиливается, повышается использование НЭЖК периферическими тканями [8]. Это ограничивает потребление глюкозы периферическими тканями и создает оптимальные условия для энергообеспечения мозга [18].

При гиперинсулинизме преобладает липосинтез над липолизом [7]. Поэтому гиперинсулинизированные животные не имели достаточной возможности использовать жирные кислоты в энергообмене. При уси-

лении использования глюкозы в процессах липогенеза, что характерно для гиперинсулинизма [15], очевидно, не удовлетворялась потребность головного мозга в глюкозе. К тому же стимуляция инсулином липогенеза повышает потребность организма в НАДФ-Н, образующемся в пентозном цикле, а следовательно, повышает и потребность в кислороде [18]. Но под влиянием инсулина угнетаются катаболические процессы [7], призванные в условиях пониженного парциального

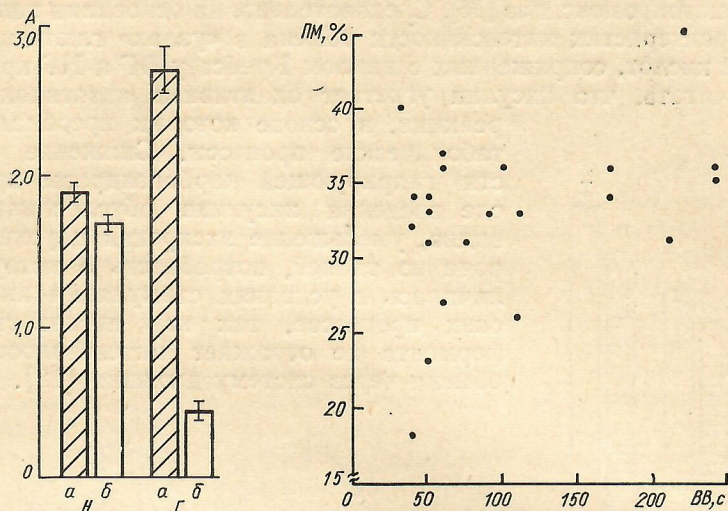


Рис. 3. Активность гидрирующей карбангидразы крови гиперинсулинизированных крыс в условиях нормоксии (Н) и острой гипоксической гипоксии (Г).
а — гиперинсулинизированные крысы, б — контроль.

Рис. 4. Зависимость между интенсивностью потери массы (ПМ) после трехсуточного полного голодания и естественной резистентностью крыс к гипоксической гипоксии (по времени выживания — ВВ). $n=23$; $r=0,65$; $p<0,005$.

давления кислорода во вдыхаемом воздухе (переаминирование, глюконогенез способствует синтезу гема) активировать кислородтранспортную функцию крови [3]. Следовательно, создается несоответствие между потребностью и обеспеченностью организма кислородом, что ведет к летальному исходу.

Итак, гиперинсулинизация усиливает липогенез, создает условия для развития тучности, угнетает липолиз, снижает выживаемость крыс в условиях гипоксической гипоксии. Следовательно, повышение выживаемости при гипоксической гипоксии должно быть обусловлено повышением липолиза, т. е. повышением интенсивности потери массы тела в определенных условиях. В качестве такого условия было использовано полное трехсуточное голодание. Ранее после полного суточного голодания были обнаружены различия в изменении углеводно-жирового обмена с/х животных различных типов продуктивности (мясной, молочный, мясо-молочный), обладающих и ярко выраженными различиями жиротложения [11]. В данной работе было использовано полное трехсуточное голодание.

Потеря массы крыс после полного трехсуточного голодания варьировала в пределах 18—49 % от исходной, т. е. диапазон индивидуальных различий был довольно широк. Можно думать, что и по гормональному фону, обеспечивающему прежде всего липолиз, состав группы был неоднороден. Возможна 30-кратная степень вариаций содержания иммунореактивного инсулина в крови мышей [21]. Наблюдается и более высокая интенсивность синтеза жирных кислот у тучных мышей [22]. В наших исследованиях обнаружена положительная связь между интенсивностью потери массы тела после полного трехсуточного голодания и временем выживания крыс в условиях гипоксической гипоксии на «высоте» 12000 м (рис. 4). Коэффициент корреляции равен 0,65 ($p<0,005$).

Таким образом, проведенные исследования подтверждают, что высокая естественная устойчивость крыс к гипоксической гипоксии связана с повышенной интенсивностью катаболических процессов, сопровождающихся более высокой активностью гидрирующей карбангидразы крови и, очевидно, липолиза. Появляется возможность исследований в направлении разработки методов прогнозирования естественной устойчивости особей к гипоксической гипоксии и ее коррекции.

V. A. Berezovsky, O. A. Boiko, L. A. Kurbakov, T. N. Gridina

CONCERNING THE PROBLEM ON THE MECHANISM OF FORMING
DIFFERENCES IN NATURAL RESISTANCE OF RATS
TO THE ACUTE HYPOXIC HYPOXIA

Activity of the hydrating blood carbanhydrase in rats high-resistant to hypoxic hypoxia is higher as compared with low-resistant ones in the initial state and under conditions of acute hypoxic hypoxia. Insulin injections to intact rats inhibit the activity of hydrating blood carbanhydrase, while acute hypoxic hypoxia increase it. Insulinization of animals results in carbanhydrase inhibition especially pronounced under conditions of hypoxic hypoxia as well as in their death (76 %) under these conditions. A positive correlation is observed between natural resistance of rats to hypoxic hypoxia and intensity of their body mass loss under the influence of fasting that is evidently, associated with more intensive lipolysis in fat depots. Conclusion is made that it is possible to develop methods of predicting natural organism resistance to hypoxic hypoxia.

A. A. Bogomolets Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Список литературы

1. Барбашова З. И. Акклиматизация к гипоксии и физиологические механизмы. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1960.—216 с.
2. Березовский В. Я. Риси індивідуальності в реакції на гіпоксію.—Фізіол. журн., 1975, 21, № 3, с. 321—376.
3. Березовский В. А., Бойко О. А., Клименко О. С. и др. Гипоксия и индивидуальные особенности реактивности.—Киев: Наук. думка, 1978.—216 с.
4. Бойко О. А. Содержание лимонной кислоты и АТФ-цитрат-лиазная активность в тканях крыс с различной естественной устойчивостью к гипоксической гипоксии.—Укр. биохим. журн., 1981, 53, № 2, с. 115—118.
5. Браунштейн А. Е., Крицман М. Г. Образование аминокислот путем интермолекулярного переноса аминогруппы. Сообщ. I. Превращение (+)-глутаминовой кислоты в мышечной ткани.—Биохимия, 1937, 2, № 2, с. 242—262.
6. Васильев Г. А., Медведев Ю. А., Хмельницкий О. К. Эндокринная система при кислородном голодании. Л.: Наука, 1974.—167 с.
7. Васюкова Е. А., Грановская-Цветкова А. М. Ожирение и сахарный диабет.—Клин. медицина, 1979, № 1, с. 70—76.
8. Грибанов Г. А., Сергеев С. Н., Алексеенко А. С. Изменение липидов крови у крыс при гипоксии.—Косм. биология и авиакосм. медицина, 1978, № 6, с. 67—71.
9. Гуллы М. Ф., Мельничук Д. А. Роль углекислоты в регуляции обмена веществ у гетеротрофных организмов.—Киев: Наук. думка, 1978.—244 с.
10. Далматов М. К., Журавель А. А., Коропов В. М. Патологическая физиология сельскохозяйственных животных.—М.: Сельхозгиз, 1960.—512 с.
11. Каплан В. А., Бойко О. А. Суточное голодание как метод изучения особенностей углеводно-жирового обмена у крупного рогатого скота.—В кн.: Методы исследований в животноводстве. Харьков, 1966, с. 83—87.
12. Козинер В. Б. Постоянство активности угольной ангидразы крови при физической работе предельной мощности и длительности.—Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1947, 23, вып. 1, с. 95—98.
13. Крепс Е. М. Дыхательный фермент—угольная ангидраза и его значение в физиологии и патологии.—Успехи соврем. биологии, 1944, т. 17, вып. 2, с. 125—156.
14. Крепс Е. М., Ченыхаева Е. К. Определение карбангидразы в крови.—Воен.-мед. сб., 1944, вып. № 1, с. 14—38.
15. Лейтес С. М., Лаптева Н. Н. Очерки по патологии обмена веществ и эндокринной системы.—М.: Медицина, 1967.—424 с.
16. Ленинджер А. Биохимия.—М.: Мир, 1976.—976 с.
17. Николаева М. Я., Балмуханов Б. С. Влияние инсулина на дыхание срезов молочной железы крысы.—Биофизика, 1980, 25, вып. 5, с. 869—872.
18. Ньюсхолм Э., Спарт К. Регуляция метаболизма.—М.: Мир, 1977.—407 с.