

2. Аудере А. К., Линдберг З. Л. К вопросу о содержании нитритов в мясных продуктах // Эпидемиология и генез рака желудка.— Вильнюс, 1974.— С. 148—153.
3. Дадзани Л. Н., Андреева Л. С. Исследование методом водородного клиренса мозгового кровотока у кроликов // Патол. физиология и эксперим. терапия.— 1972.— № 3.— С. 91—93.
4. Иваницкая Н. Ф. Методика получения разных стадий гемической гипоксии у крыс введением нитрита натрия // Там же.— 1976.— № 3.— С. 69—71.
5. Корсумова С. Л. О нитратах и нитритах в колбасных изделиях // Материалы 29-й науч. конф. асп. и клин. ординаторов Ленинград. сан.-гигиен. мед. ин-та.— Л., 1969.— С. 123—124.
6. Кушаковский М. С. Клинические формы повреждения гемоглобина.— Л.: Медицина, 1968.— 325 с.
7. Лябах Е. Г. Математическое моделирование массопереноса кислорода в мышечной ткани // Вторичная тканевая гипоксия.— Киев: Наук. думка, 1983.— С. 52—64.
8. Майструк П. Н., Дунаевский Г. А., Соломко Г. И. и др. Применение сухой белковой смеси в диетическом питании: Метод. рекомендации. Киев, 1983.— 27 с.
9. Маньковская И. Н., Филиппов М. М. Некоторые механизмы транспорта кислорода и его утилизации в скелетной мышце при острой гемической гипоксии // Физиол. журн.— 1983.— 24, № 3.— С. 327—331.
10. Матлина Э. Ш., Рахманова Г. В. Метод определения адреналина, норадреналина, дофамина и ДОФА в тканях // Методы исследования некоторых систем гуморальной регуляции.— М., 1967.— С. 136—144.
11. Мотылев В. Д. О возрастной нитратно-нитритной метгемоглобинемии // Метгемоглобинемия различных этиологий и меры ее профилактики.— Л., 1971.— С. 38—40.
12. Нагнибеда Н. Н., Миняйленко Т. Д. Влияние гемической гипоксии на симпатoadrenalную систему и кислотно-основное состояние крови // Эндокринная система организма и вредные факторы внешней среды.— Ставрополь, 1983, Б. и.— С. 38—40.
13. Ньюсхолм Э., Старт К. Регуляция метаболизма.— М.: Мир, 1977.— 322 с.
14. Пальмин В. В., Прищенко В. К., Федорова Г. А. К вопросу о снижении остаточного нитрита в вареных колбасах // Вопр. питания.— 1975.— № 4.— С. 58—59.
15. Ткачук В. А. Введение в молекулярную эндокринологию.— М.: Изд-во Моск. ун-та, 1983.— 256 с.
16. Филиппов М. М., Маньковская И. Н., Курбаков Л. А. Открытый метод определения газообмена у мелких лабораторных животных // Физиол. журн.— 1981.— 27, № 2.— С. 240—242.
17. Laverty D., Taylor K. M. The fluorometric assay of catecholamines and related compounds: improvements and extension to the hydroxyindole technique // Anal. Biol.— 1968.— 22, N 2.— P. 260—279.
18. Reddy D., Lancaster Y. K. Cornforth of clostridium botulinum: electron spin resonance detection of iron-nitric oxide complexes // Science.— 1983.— 221, N 5.— P. 769—770.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 26.04.85

УДК 612.35+612.26:591.151

Исследование связи между устойчивостью крыс к острой гипоксической гипоксии и активностью микросомальной системы окисления печени

Л. А. Горчакова

Известно, что в пределах одного вида животных есть особи с повышенной и пониженной устойчивостью к низкому P_{O_2} [1]. Они являются удобной экспериментальной моделью для изучения физиологических механизмов резистентности к гипоксии. Ранее было показано, что высоко- и низкоустойчивые к острой гипоксии крысы различаются по интенсивности микросомальных процессов печени [2, 4]. С одной стороны, продолжение этих исследований может состоять в установлении связи между устойчивостью к гипоксии и активностью микросомальной системы окисления печени. С другой стороны, изучение такого рода связи может быть продолжено экспериментами, демонстрирующими изменения устойчивости животных к гипоксии при направленном воздействии на микросомальную систему окисления печени. Такого рода исследования единичны [5], а эксперименты, выполненные с учетом

индивидуальной устойчивости организма к гипоксии, вообще отсутствуют.

Цель нашей работы заключалась в том, чтобы исследовать связь между устойчивостью крыс к острой гипоксической гипоксии и активностью митохондриальной системы окисления печени.

Методика

Исследования проводили на лабораторных крысах-самцах массой 200—250 г, обладающих различной устойчивостью к острой гипоксической гипоксии. Об устойчивости к гипоксии судили по времени выживания крыс под вакуумным колоколом на 12 тыс. мм рт. ст. (P_{O_2} составляло 30 мм рт. ст.). Основанием для «спуска» животного служили второй агональный вдох и судороги [1]. Среднее время выживания для группы низкоустойчивых к гипоксии (НГ) крыс составляло 92 с, а для группы высокоустойчивых к гипоксии (ВГ) крыс — 262 с, т. е. отличалось в 3 раза.

Митохондриальную фракцию выделяли из гомогенатов ткани печени дифференциальным центрифугированием [8]. Интенсивность процессов митохондриального окисления печени определяли в опытах *in vitro* и *in vivo*, в первом случае — по убыли кислорода из полярографической ячейки при добавлении в инкубационную среду восстановленного НАДФ, диметиланилина и амидопирина [9], во втором — по значению величины, обратной длительности гексеналового сна у крыс.

Потребление кислорода в полярографической ячейке (емкостью 1 мл) регистрировали модифицированным кларковским электродом при постоянной температуре среды (37 °C). Состав среды инкубации (конечная концентрация): 40 ммоль трис-НСI буфер (pH 7,4); 0,6 ммоль ЭДТА, 16 ммоль $MgCl_2$. В инкубационную среду добавляли 3 ммоль НАДФН, 6 ммоль диметиланилина, 1 ммоль амидопирина. Интенсивность митохондриального окисления выражали в наноатомах кислорода, поглощенных за одну минуту и рассчитанных на 1 мг митохондриального белка (наноатом $\cdot$ мин⁻¹ $\cdot$ мг⁻¹). Митохондриальный белок определяли методом Лоури [15]. Об интенсивности процессов митохондриального окисления печени *in vivo* судили по величине, обратной длительности гексеналового сна у крыс. Известно, что длительность гексеналового сна коррелирует со скоростью разрушения ксенобиотика в крови, которая, в свою очередь, коррелирует с активностью митохондриальной системы окисления печени [3, 13].

Суммарное потребление кислорода определяли с помощью автоматизированной установки Курбакова [6] и выражали в миллилитрах O_2 в минуту на 100 г массы животного (мл $\cdot$ мин⁻¹ $\cdot$ 100 г⁻¹). О температуре тела судили по ректальной температуре, которую определяли электротермометром марки ЭТМ-1, погружая его на глубину 15 мм.

Острое гипоксическое воздействие на крыс моделировали, выдерживая животных в течение 20 мин в барокамере на «высоте» 10 тыс. м. н. у. м. Индукцию митохондриальной системы окисления вызывали дробным внутрибрюшинным введением фенотербита (по 80 мг/кг 1 раз в сутки) в течение 3 сут. В этом случае изучаемые показатели регистрировали через 48 ч после третьей инъекции. При таком режиме введения обеспечивается максимальная индукция митохондриальной системы окисления [11]. О мере индукции судили по укорочению гексеналового сна, который вызывали внутрибрюшинным введением гексенала (100 мг/кг). Седативный эффект фенотербита получали при однократном внутрибрюшинном введении препарата (240 мг/кг). В этом случае изучаемые показатели определяли через 40 мин после инъекции.

Результаты и их обсуждение

В результате исследования активности митохондриальной системы окисления (МСО) в опытах *in vitro* установлено, что митосомы печени ВГ-крыс достоверно интенсивнее окисляют восстановленный НАДФ, диметиланилин и амидопирин, чем митосомы НГ-крыс (рис. 1). Активность МСО печени, определяемая *in vivo* как величина, обратная длительности гексеналового сна, также достоверно выше у ВГ-крыс, чем у НГ-крыс (рис. 2). Длительность гексеналового сна у ВГ-крыс (время выживания 180—1080 с) составляла $19,75 \pm 2,6$ мин, а у НГ-крыс (время выживания 25—105 с) — $38,13 \pm 4,1$ мин. Показано также, что между устойчивостью животных к острой гипоксии и активностью МСО печени существует прямая корреляция, коэффициент

которой (γ) составляет 0,79 (рис. 3). Выявленная зависимость позволяет использовать длительность гексеналового сна в качестве теста на естественную резистентность к гипоксии. Это расширяет прогностические возможности длительности гексеналового сна, используемого ранее [3] для характеристики только мощности детоксикационной функции печени.

Установив наличие связи между устойчивостью крыс к гипоксии и интенсивностью процессов микросомального окисления печени, мы по-

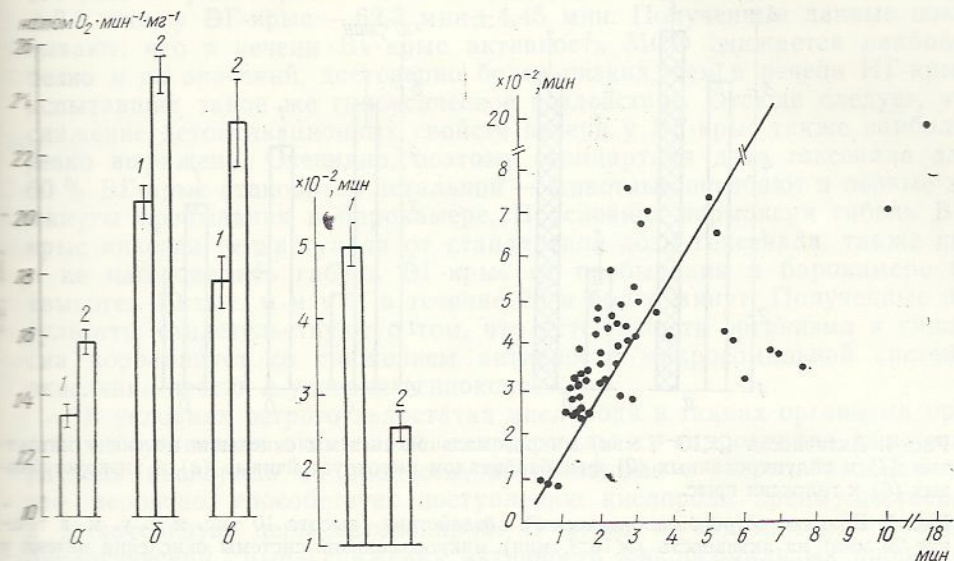


Рис. 1. Интенсивность окисления (натом $O_2 \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$) микросомами печени низкоустойчивых (1) и высокоустойчивых (2) к острой гипоксии крыс восстановленного НАДФ (а), диметиланилина (б) и амидопирин (в).

Рис. 2. Активность ($\times 10^{-2}$, мин) микросомальной системы окисления печени *in vivo* у высокоустойчивых (1) и низкоустойчивых (2) к острой гипоксии крыс.

Рис. 3. Корреляция между временем выживания (мин) крыс на высоте 12 тыс. м н. у. м. активностью ($\times 10^{-2}$, мин) микросомальной системы окисления печени ($\gamma=0,79$; $n=52$, $P<0,01$).

ставили задачу исследовать, как изменится устойчивость крыс к острой гипоксии после направленного воздействия на МСО печени. В качестве модификатора активности МСО печени был использован фенобарбитал. Он является классическим индуктором синтеза микросомальных ферментов, приводящим к значительному возрастанию активности МСО печени [9, 10]. После дробного введения фенобарбитала у ВГ- и НГ-крыс определяли устойчивость к гипоксии. Установлено, что у ВГ-крыс, получавших фенобарбитал, устойчивость к гипоксии снижается на 37 %, а у НГ-крыс — повышается на 85 %. Известно, однако, что изменение устойчивости к гипоксии при введении фенобарбитала может наступить за счет снижения суммарного потребления кислорода и температуры тела. Поэтому у ВГ- и НГ-крыс кроме времени выживания определяли суммарное потребление кислорода и температуру тела. Для сравнения эти же показатели определяли у ВГ- и НГ-крыс, однократно получавших фенобарбитал (240 мг/кг). Результаты исследования показали, что после трехкратного введения фенобарбитала суммарное потребление кислорода и ректальная температура остаются в пределах нормы у ВГ- и НГ-крыс. В тоже время у ВГ- и НГ-крыс, однократно получавших фенобарбитал (240 мг/кг), наблюдалось снижение суммарного потребления кислорода и ректальной температуры. Устойчивость же к гипоксии у этих крыс возрастала: у ВГ-крыс — в 2 раза, а у НГ-крыс — в 8 раз (таблица). Полученные результаты показывают, что изменения устойчивости к гипоксии у ВГ- и НГ-крыс после трехкратного введения фенобарбитала связаны не со снижением суммарного

потребления кислорода, а с изменением окислительного метаболизма печени.

Следующий этап исследований заключался в оценке способности МСО печени ВГ- и НГ-крыс индуцироваться фенобарбиталом. Результаты исследований показали, что МСО печени ВГ- и НГ-крыс различается по такой способности. Установлено, что у НГ-крыс гексеналовый сон сокращается на 50 % (с $38,13 \text{ мин} \pm 4,1 \text{ мин}$ до $19,1 \text{ мин} \pm 0,9 \text{ мин}$).

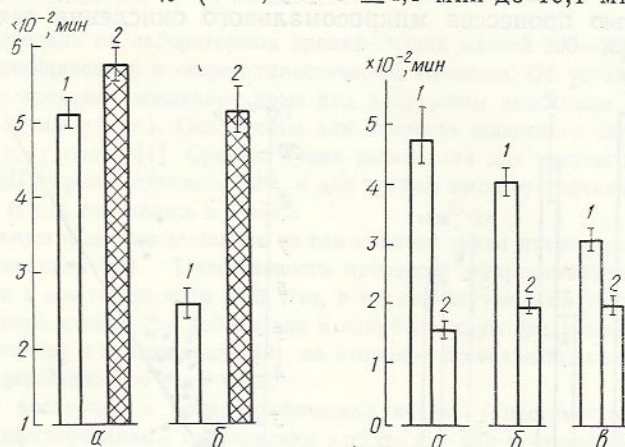


Рис. 4. Активность ($\times 10^{-2}$, мин) микросомальной системы окисления печени у intact-ных (1) и индуцированных (2) фенобарбиталом высокоустойчивых (а) и низкоустойчивых (б) к гипоксии крыс.

Рис. 5. Влияние острого гипоксического воздействия (высота 10 тыс. м н. у. м. в течение 20 мин) на активность ($\times 10^{-2}$, мин) микросомальной системы окисления печени у высокоустойчивых (а), среднеустойчивых (б) и низкоустойчивых (в) к недостатку кислорода крыс:

1 — нормоксия; 2 — гипоксия.

У ВГ-крыс время сна сокращается на 12 % (с $19,75 \text{ мин} \pm 2,6 \text{ мин}$ до $17,26 \text{ мин} \pm 2,3 \text{ мин}$). Активность микросомальной системы окисления печени как величина, обратная длительности гексеналового сна, представлена на рис. 4.

Известно, что в ответ на острое гипоксическое воздействие активность МСО печени снижается [11, 16]. Неизвестно, однако, в какой мере реализуется это снижение у крыс с различной устойчивостью к острой гипоксии. В связи с этим мы поставили задачу установить меру снижения активности МСО печени у низко-, средне- и высокоустойчивых

Время выживания, суммарное потребление кислорода и ректальная температура у высокоустойчивых и низкоустойчивых к острой гипоксии крыс при разном режиме введения фенобарбитала

Показатель	Высокоустойчивые к гипоксии крысы		Низкоустойчивые к гипоксии крысы	
	Дробное введение	Однократное введение	Дробное введение	Однократное введение
Время выживания, с				
контроль	280 ± 25	446 ± 51	82 ± 3	77 ± 4
опыт	$180 \pm 11^*$	$911 \pm 64^*$	$152 \pm 11^*$	$614 \pm 119^*$
Суммарное потребление, $\text{мл O}_2 \cdot \text{мин}^{-1} \cdot 100 \text{ г}^{-1}$				
контроль	$1,4 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,1$
опыт	$1,6 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,1^*$	$2,0 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,1^*$
Ректальная температура, °C				
контроль	$37,8 \pm 0,1$	$37,8 \pm 0,1$	$37,9 \pm 0,1$	$37,9 \pm 0,1$
опыт	$37,7 \pm 0,1$	$31,8 \pm 0,1^*$	$37,9 \pm 0,1$	$33,1 \pm 0,4^*$

* Достоверность различий между контролем и опытом.

к гипоксии крыс. Сравнивали длительность гексеналового сна у этих крыс в условиях нормоксии с длительностью их сна после 20-минутного пребывания на «высоте» 10 тыс. м н. у. м. Установлено, что 20-минутное пребывание крыс в барокамере удлиняло время гексеналового сна у всех крыс. В условиях нормоксии гексеналовый сон длился у НГ-крыс 32,8 мин $\pm$ 2,98 мин, у СГ-крыс — 24,02 мин $\pm$ 1,09 мин, у ВГ-крыс — 20,29 мин $\pm$ 2,2 мин. После гипоксического воздействия гексеналовый сон длился у НГ-крыс — 49,73 мин $\pm$ 2,48 мин, у СГ-крыс — 50,2 мин $\pm$ 2,3 мин, у ВГ-крыс — 62,3 мин $\pm$ 4,45 мин. Полученные данные показывают, что в печени ВГ-крыс активность МСО снижается наиболее резко и до значений, достоверно более низких, чем в печени НГ-крыс, испытавших такое же гипоксическое воздействие. Отсюда следует, что снижение детоксикационных свойств печени у ВГ-крыс также наиболее резко выражено. Очевидно, поэтому стандартная доза гексенала для 60 % ВГ-крыс становится летальной — животные погибают в первые же минуты пребывания в барокамере. В условиях нормоксии гибель ВГ-крыс никогда не наступала от стандартной дозы гексенала, также как и не наблюдалась гибель ВГ-крыс от пребывания в барокамере на «высоте» 10 тыс. м н. у. м. в течение 20 и более минут. Полученные результаты свидетельствуют о том, что устойчивость организма к гипоксии коррелирует со снижением активности микросомальной системы окисления печени в условиях гипоксии.

В условиях острого недостатка кислорода в тканях организма происходит угнетение активности микросомальных гидроксилаз, снижение расхода кислорода на процессы, не связанные с энергообразованием, что, вероятно, способствует поступлению кислорода преимущественно в дыхательную цепь митохондрий. В этом, по-видимому, и состоит биологический смысл снижения активности микросомальных процессов в печени при низких значениях P_{O_2} . Такое предположение может быть дополнено литературными данными о сохранении нормального уровня активности реакций окислительного фосфорилирования при тех значениях P_{O_2} , когда активность микросомальной системы окисления угнетена. Причина более раннего снижения (по сравнению с дыхательной цепью митохондрий) активности цитохром-Р-450-зависимых гидроксилаз может состоять в их меньшем сродстве к кислороду, чем цитохромоксидазы [11]. Очевидно, что в экстремальных условиях кислородного голодания поддержание энергетического гомеостаза более важно, чем сохранение микросомального окисления, так как выживание в большей мере зависит от продукции энергии в митохондриях, чем от микросомальных кислородзависимых реакций детоксикации.

Таким образом, из приведенного экспериментального материала можно сделать следующие выводы: 1 — существует высокая корреляция между устойчивостью крыс к острой гипоксической гипоксии и активностью микросомальной системы окисления печени; 2 — направленное изменение активности микросомальной системы окисления печени коррелирует с изменением устойчивости ВГ- и НГ-крыс к гипоксии; 3 — при низких значениях P_{O_2} для высокоустойчивого к гипоксии организма характерно резкое снижение активности микросомальной системы окисления печени, в то время как для низкоустойчивого к гипоксии организма снижение активности микросомальной системы окисления печени достоверно ниже.

A STUDY OF THE RELATION BETWEEN RATS RESISTANCE TO ACUTE HYPOXIC HYPOXIA AND ACTIVITY OF THE LIVER MICROSOMAL OXIDATION SYSTEM

L. A. Gorchakova

Experiments have been carried out on rats with different resistance to acute hypoxic hypoxia. A high direct correlation is revealed between the resistance to acute hypoxia and intensity of microsomal oxidation processes in the rat liver. It is shown that the microsomal oxidation system (MOS) in the liver of rats high-resistant and low-resistant to

hypoxia has different reactivity to pharmacological and hypoxic agents. It is stated that all the rats respond to acute hypoxic action by a decrease of the MOS activity in the liver. The most considerable decrease in the MOS activity is observed in the liver of rats high-resistant to hypoxia. A conclusion is made that the response of the liver MOS to hypoxia is of adaptive character and can be one of the causes of the high organism resistance to oxygen failure.

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

1. Березовский В. Я. Риси індивідуальності в реакції на гіпоксію // Фізіол. журн. УРСР.— 1975.— 21, № 3.— С. 371—376.
2. Березовский В. А., Носарь В. И., Сукачева Л. А. Индивидуальные различия в реактивности высоко- и низкоустойчивых к острой гипоксии крыс и их связь с микросомальным окислением // Актуальные проблемы современной патофизиологии.— Киев: Наук. думка, 1981.— С. 440—441.
3. Большев В. Н. Индукторы и ингибиторы ферментов метаболизма лекарств // Фармакология и токсикология.— 1982.— 43, № 3.— С. 373—379.
4. Горчакова Л. А. Митохондриальное и микросомальное окисление в печени крыс с различной естественной устойчивостью к гипоксии // Актуальные проблемы современной физиологии.— Киев: Наук. думка, 1986.— С. 163—164.
5. Грек О. Р., Долгов А. В., Изюмов Е. Г. и др. Метаболизм ксенобиотиков в печени при острой гипоксии у интактных и адаптированных к недостатку кислорода мышей // Фармакология и токсикология.— 1984.— 47, № 1.— С. 98—101.
6. Курбаков Л. А. Автоматическая установка для бесконтактного определения минутного объема дыхания и потребления кислорода у мелких лабораторных животных: Рац. предложение ОНТИ Института физиологии им. А. А. Богомольца АН УССР № 88 от 10.04. 1980 г.
7. Медведев Д. А., Васильев Г. А. Резистентность кастрированных крыс к гипоксической гипоксии // Патол. физиология и эксперим. терапия.— 1972.— 16, № 11.— С. 44—47.
8. Покровский А. А., Арчаков А. И. Методы разделения и ферментативной идентификации субклеточных фракций // Современные методы в биологии и медицине.— М.: Медицина, 1968.— С. 5—22.
9. Сергеев П. В., Халилов Э. М., Арчаков А. И. и др. Гидроксирование ксенобиотиков и стероидов в эндоплазматическом ретикулеуме печени крыс // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1976.— 81, № 3.— С. 299—301.
10. Conney A. H., Kluch A. Increased activity of androgen hydroxylases in liver microsomes of rats pretreated with phenobarbital and other drugs // J. Biol. Chem.— 1963.— 238.— N 5.— P. 1611—1617.
11. Ernster L., Orrenius S. Substrate — induced synthesis of the hydroxylating enzyme systems of liver microsomes // Fed. Proc.— 1965.— 24.— N 5.— P. 1190—1199.
12. Jones D. P. Hypoxia and drug metabolism // Biochem. Pharmacol.— 1981.— 30.— N 10.— P. 1019—1023.
13. Kinger W., Ankerman H. Die hexobarbital narkose bei infantilen ratten // Acta biol. et med. german.— 1966.— 17.— S. 357—359.
14. Levin W., Welch E. M., Conney A. H. Effect of chronic phenobarbital treatment on the liver microsomal metabolism and uterotrophic action of 17-beta-estradiol // Endocrinology.— 1967.— 80.— N 1.— P. 135—140.
15. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randal R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem.— 1951.— 193.— N 1.— P. 265—275.
16. Montgomery M. R., Rubin R. J. Oxygenation during inhibition of drug metabolism by carbon monoxide or hypoxic hypoxia // J. Appl. Physiol.— 1973.— 35.— N 4.— P. 505—509.
17. Sanders A. P., Hale D. M., Miller A. T. Some effects of hypoxia on respiratory metabolism and protein in rat tissues // Amer. J. Physiol.— 1965.— 209.— N 2.— P. 443.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 10.03.86

УДК 612.26:546.17:546.291

Влияние замены азота воздуха гелием и аргоном на интенсивность тканевого дыхания

Т. Н. Говоруха, А. И. Назаренко

Установлено, что при заболеваниях, сопровождающихся дыхательной недостаточностью, применение гелиево-кислородных смесей облегчает состояние пациентов [3, 6, 8]. Действующими факторами замены азота