

Изменение нейтральных пептидгидролаз крови и катехоламинов тканей при адаптации организма к высокогорной гипоксии

В настоящее время накоплено много данных о физиологических механизмах адаптации организма к горным условиям, в то время как биохимические механизмы остаются недостаточно изучены, в том числе и адаптивные возможности протеолитических ферментов.

В последние годы сформулировано новое понимание роли протеолитических ферментов в организме, согласно которому они выполняют не только деструктивную, но и регуляторную функцию, являющуюся особой формой контроля обмена веществ [2, 13]. При этом и полное расщепление белка (полный протеолиз), и расщепление одной или нескольких пептидных связей в белке или пептиде, приводящие к образованию или устраниению биологически активных соединений (ограниченный протеолиз), могут оказывать регулирующее действие на метаболизм и реализацию определенных физиологических процессов. Более изучен ограниченный протеолиз, который очень распространен в организме и входит в биогенез многих ферментов и гормонов. Он играет решающую роль в активации протеолитической системы крови, обеспечивая пусковой и медиаторный механизм ряда защитных систем организма [2, 6]. Однако еще нет полного, законченного представления о единой протеолитической системе крови и ее роли в организме.

Цель нашей работы состояла в изучении нейтральной протеолитической активности плазмы крови крыс, пребывавших в горах на различной высоте, параллельно с изучением некоторых показателей симпатоадреналовой системы, роль которой в адаптационных процессах достаточно хорошо изучена [16, 18, 20].

Методика

Исследование проведено на 80 крысах в условиях равнины (г. Киев) и высокогорья (пос. Терскол и ст. Мир в Приэльбрусье). Животные в течение 18 сут пребывали на высоте 2100 м над уровнем моря (I группа) и на высоте 3500 м над уровнем моря (II группа). Плазму получали после декапитации крыс из гепаринизированной крови. Об активности нейтральных пептидгидролаз судили по количеству аргинина, отщепившегося от протаминасульфата под воздействие ферментов за 30 мин инкубации при температуре 37°C и pH 7,2 [3]. Уровень адреналина и норадреналина исследовали у тех же животных в надпочечнике и мозгу флюориметрическим методом в модификации Матлиной [14].

Результаты и их обсуждение

В результате исследований обнаружено, что на 3-и сутки пребывания в горах наблюдается статистически достоверное повышение активности нейтральных пептидгидролаз по сравнению с их активностью на равнине (рис. 1). На высоте 2100 м повышение активности ферментов было более выражено, чем на высоте 3500 м (см. рис. 1). При дальнейшем пребывании в горах активность нейтральных пептидгидролаз снижается. На 10-е сутки средний уровень их активности близок к значениям контроля. На высоте 3500 м это снижение значительно и статистически достоверно. На 18-е сутки опять регистрируется повышение активности нейтральных пептидгидролаз. Если во II группе животных это повышение выражено и статистически достоверно, то в I — оно статистически недостоверно.

Таким образом, при хроническом действии гипоксии изменение активности нейтральных пептидгидролаз имеет синусоидальный характер,

что дает основание и повышение, и снижение активности исследуемых ферментов считать последовательными этапами приспособления организма к данным условиям.

Сопоставление этих результатов с результатами определения содержания катехоламинов в мозгу и надпочечниках подтверждает этот вывод. Динамика содержания биогенных аминов также характеризуется фазностью. В первые сутки пребывания в горах наблюдается падение уровня норадреналина в гипоталамусе и коре головного мозга,

особенно выраженное на большой высоте. Можно полагать, что резкое снижение норадреналина в мозгу является результатом выброса норадреналина из резервных гранул в ответ на стресс-ре-

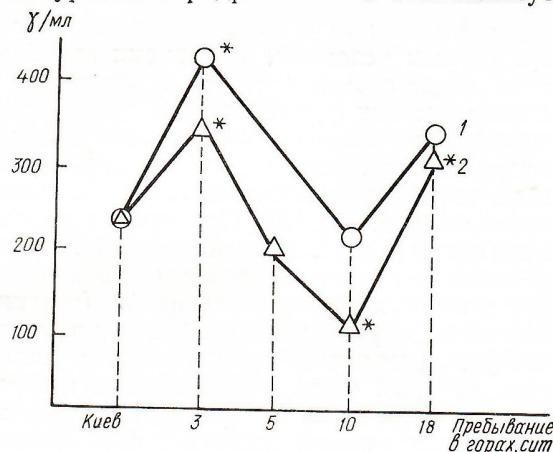


Рис. 1. Активность нейтральных пептидгидролаз плазмы крови крыс в условиях высоты 2100 м (1) и 3500 м (2).

Звездочки обозначены достоверные изменения по сравнению с контролем (Киев, 90 м).

акцию с последующим разрушением и замедлением ресинтеза этого амина. Это подтверждается литературными данными, свидетельствующими, что при гипоксии и аноксии происходит снижение содержания норадреналина в мозгу за счет выхода части лабильно связанного амина из ткани мозга [1]. После падения содержания норадреналина в гипоталамусе и коре происходит четкое его нарстание, которое сохраняется на протяжении всего последующего изучаемого времени пребывания в горах (см. таблицу). Это, вероятно, объясняется увеличением активности норадренергических нейронов мозга, что наблюдается при увеличении продолжительности действия гипоксических условий, когда активируется тирозингидроксилаза, ключевой фермент синтеза катехоламинов [21], а моноаминооксидаза, митохондриальный фермент, расположенный вблизи многоферментных комплексов тканевого дыхания, шунтирующий основную дыхательную цепь на всем ее протяжении и участвующий в катаболизме биогенных аминов, угнетается [19].

Концентрация норадреналина в мозгу крыс, пребывающих на различной высоте над уровнем моря ($M \pm m$), мкг/г

Область головного мозга	90 м (контроль)	2100 м		
		3-и сутки	10-е сутки	18-е сутки
Кора головного мозга	$0,240 \pm 0,020$	$0,22 \pm 0,037^*$	$0,290 \pm 0,030^{**}$	$0,604 \pm 0,54^*$
Гипоталамус	$1,16 \pm 0,089$	$1,48 \pm 0,155^{**}$	$2,66 \pm 0,348^{***}$	$2,31 \pm 0,192^{***}$
Область головного мозга	90 м (контроль)	3500 м		
		3-и сутки	10-е сутки	18-е сутки
Кора головного мозга	$0,240 \pm 0,020$	$0,05 \pm 0,006^{***}$	$0,545 \pm 0,037^{**}$	$0,504 \pm 0,064^{***}$
Гипоталамус	$1,16 \pm 0,089$	$0,522 \pm 0,191^{***}$	$1,374 \pm 0,38^*$	$2,23 \pm 0,21^{***}$

Приложение. Звездочкой обозначены достоверные результаты по сравнению с контролем. * $P < 0,1 - 0,5$; ** $P < 0,02 - 0,05$; *** $P < 0,001 - 0,002$.

На 3-и сутки пребывания в горах в надпочечниках содержание адреналина возрастает, а норадреналина, предшественника адреналина, падает. На высоте 3500 м эти изменения статистически достоверны. На 10-е сутки содержание адреналина снижается на обеих высотах, приближаясь к норме (рис. 2). Содержание норадреналина на высоте 2100 м статистически достоверно понижено. На 18-е сутки содержание катехоламинов ниже контрольного. Проведенное ранее более длительное изучение концентрации катехоламинов в надпочечниках на высоте 3200 м выявили на 30-е сутки опять повышенное содержание КА, т. е.

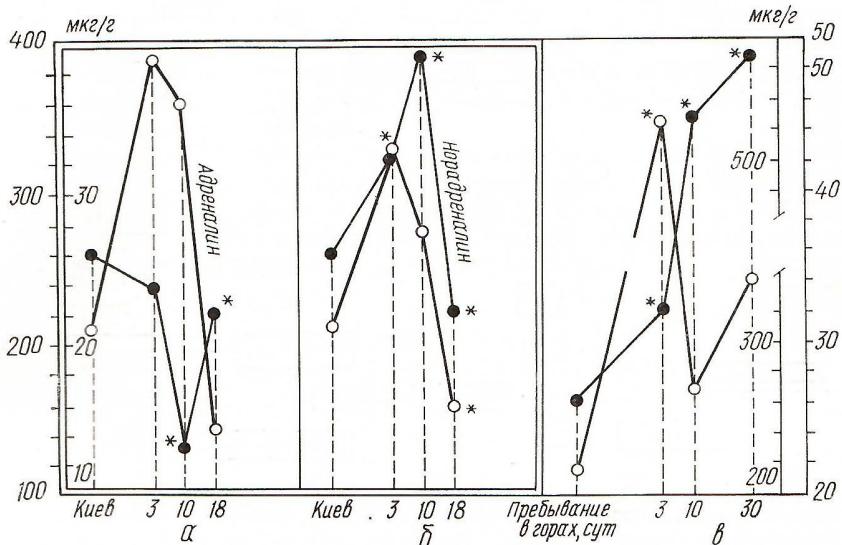


Рис. 2. Концентрация катехоламинов в надпочечниках в условиях высоты 2100 м (а), 3500 м (б) и 3200 м (в).

Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

изменения концентрации биогенных аминов в надпочечниках напоминает фазный характер изменения активности нейтральных пептидгидролаз плазмы.

Основная доля нейтральной протеолитической активности плазмы приходится на ферменты: тромбин, плазмин, калликреины [3]. К нейтральным пептидгидролазам плазмы относится пептидилдипептидаза [15]. Тромбин — протеолитический фермент, имеющий первостепенное значение для свертывания крови. Он завершает каскад реакций ограниченного протеолиза и катализирует образование фибринова. Плазмин — основной фибринолитический фермент плазмы. Калликреины в плазме крови катализируют реакцию образования кининов, главным из которых является брадикинин — гипотензивный пептид, вызывающий расслабление гладкой мускулатуры сосудов, повышающий проницаемость капилляров, участвующих в регуляции микроциркуляции. Пептидилдипептидаза является компонентом как кининовой, так и ангиотензиновой системы, поскольку она одновременно катализирует разрушение брадикинина и образование его антагониста [7, 15]. В литературе проявляется тенденция к выявлению иерархии ферментов протеолитической системы крови. В одних работах [6] ведущую роль отдают калликреиновой системе, в других — пептидилдипептидазе [7]. Проведенный нами анализ литературы [2, 5—7, 10, 13, 15, 17] дает возможность проследить взаимосвязь основных ферментов нейтрального протеолиза крови и установить их прямые и обратные связи. Это позволяет говорить о единой протеолитической системе крови, в которой, независимо от того, какое звено в первую очередь реагирует на раздражитель, в реакцию всегда вовлекаются и остальные звенья системы. Поэтому определение функции калликреиновой системы как участие в «коррекции

факторов, определяющих реологические свойства крови и тонус сосудов» [17] можно отнести ко всей протеолитической системе крови.

Обнаруженная нами динамика активности нейтральных пептидгидролаз плазмы в горах совпадает с данными физиологического исследования Исабаевой [9] динамики свертываемости крови не только по направленности, но и по срокам пребывания в горах. Фазный характер этого процесса Исабаева относит к биологической неспецифической

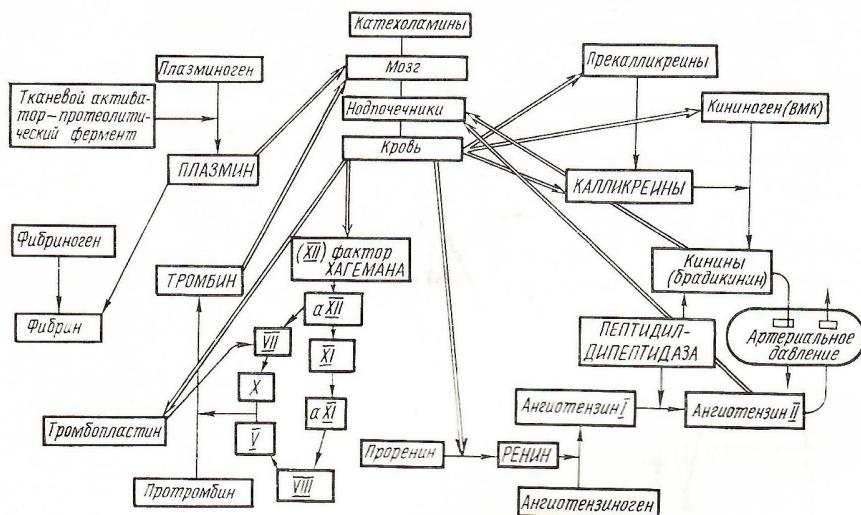


Рис. 3. Схема возможных путей взаимного влияния протеолитических ферментов крови и катехоламинов.

адаптационной реакции, направленной на обеспечение микроциркуляции при адаптации к гипоксии и реализуемой через систему гипофиз — кора надпочечников.

Катехоламинам придается особенно большое значение в реакциях организма на стресс как пусковому механизму в системе гипоталамус — кора надпочечников [20]. Катаболизм белков в свою очередь находится под контролем глюкокортикоидов [13]. Однако обращает на себя внимание тот факт, что если в начальный период острого воздействия высокогорной гипоксии повышение активности нейтральных пептидгидролаз идет параллельно выбросу адреналина в надпочечниках, то следующее повышение активности ферментов опережает повышение адреналина. Пептидгидролазы выполняют регуляторную функцию, но тонкие механизмы взаимоотношений этих ферментов и других регулирующих систем пока не изучены. На рис. 3 мы обобщили данные литературы [2, 4—7, 17] о связях нейтральных пептидгидролаз крови и катехоламинов, свидетельствующие о возможности их прямого взаимного влияния. Из схемы видно, что катехоламины, активированием фактора Хагемана, могут оказывать влияние на свертывание крови, плазминоген-плазминовую, калликреин-кининовую, а также непосредственно стимулируют освобождение ренина и калликреина, т. е. влияние катехоламинов распространяется на все звенья протеолитической системы крови. Существует обратная связь: от системы свертывания крови, ренин-ангиотензиновой системы, калликреин-кининовой системы к симпатоадреналовой системе. Представленная схема иллюстрирует возможность сочетания ответов протеолитической системы крови и симпатоадреналовой системы, что подтвердили результаты наших экспериментов. Это выражается общностью физиологических проявлений действия и катехоламинов, и нейтральных пептидгидролаз сыворотки крови. И те, и другие способны оказывать влияние на микроциркуляцию, артериальное давление, потребление кислорода тканями, и для тех, и для других выявлена связь с содержанием глюкозы в крови.

В первой стрессовой фазе происходит сопряженное увеличение активности нейтральных пептидгидролаз и выброс адреналина. После более длительного пребывания в горах (при развитии состояния резистентности к гипоксии), когда идет перестройка всех физиологических процессов и биохимических реакций на более экономный приспособительный путь их развития, регулирующая функция протеолитических ферментов, возможно, может приобретать автономность. Кроме гормонального контроля, характерного для белкового метаболизма вообще, регуляция активности протеолитических ферментов осуществляется специфическими ингибиторами [1—3, 13] белковой природы, обнаруженными в сыворотке крови и различных тканях, в частности в большом количестве в легких, что, по-видимому, имеет большое значение при гипоксии: в этих условиях легкие первыми будут получать информацию о недостатке кислорода [8]. Интересно, что легкие также участвуют в эlimинации катехоламинов из крови.

Таким образом, при продолжительном пребывании в условиях высокогорной гипоксии наблюдаются фазные изменения активности симпатоадреналовой системы и активности нейтральных пептидгидролаз плазмы крови, что свидетельствует об участии нейтральных пептидгидролаз крови в адаптационных реакциях организма.

CHANGES IN NEUTRAL PEPTIDE-HYDROLASES OF BLOOD AND CATECHOLAMINES OF TISSUES IN ORGANISM ADAPTED TO ALPINE HYPOXIA

A. A. Ivashkevich, N. N. Nagmibeda

Activity of neutral peptide-hydrolases in blood plasma and content of catecholamines in the tissues of rats under conditions of their stay in mountains at different height have been studied in dynamics. Unidirectional phase changes in activity of proteolytic enzymes of blood plasma and content of catecholamines in adrenal glands are revealed. A conclusion is made on participation of neutral blood peptide-hydrolases in organism adapted to Alpine hypoxia. Relations between neutral blood peptide-hydrolases and catecholamines in the organism and possibility of their direct mutual effect are under discussion.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Брейдо Г. Я., Рейдлер Р. М. Роль надпочечников в изменении содержания катехоламинов у белых крыс после физ. нагрузки // Физiol. журн. СССР.—1968.—54, № 3.—С. 370—374.
2. Веремеенко К. Н. Роль протеолитических ферментов в регуляции обмена веществ // Биохимия животных.—Киев : Наук. думка, 1983.—№ 7.—С. 37—46.
3. Веремеенко К. Н. Ферменты протеолиза и их ингибиторы в медицинской практике.—Киев : Наук. думка, 1971.—195 с.
4. Годышенко С. П., Скунцов В. П. Роль адренергических образований в регуляции освобождения кишечником гемокоагулирующих соединений в кровеносное русло // Бюл. эксперим. биологии и медицины.—1985.—99, № 3.—С. 265—266.
5. Голубенко Н. И. Влияние ангиотензина II на показатели системы фибринолиза в опытах *in vitro* // Лаб. дело.—1981.—№ 12.—С. 720—722.
6. Гомазков О. А., Комисарова Н. В. Общие механизмы биохимической регуляции калликреиновой, свертывающей, фибринолитической систем крови // Успехи соврем. биологии.—1976.—82, № 3.—С. 356—370.
7. Елисеева Ю. Е., Павлихина Л. В., Орехович В. Н. Биохимические механизмы регуляции артериального давления // Клин. медицина.—1987.—№ 5.—С. 9—19.
8. Ивашикевич А. А., Носарь В. И., Курбаков Л. А. Нейтральные пептид-гидролазы сыворотки крови и легких в условиях гипоксии // Косм. биология и авиакосм. медицина.—1989.—№ 3.—С. 23—36.
9. Исабаева В. А. Система свертывания крови и адаптация к природной гипоксии.—Л. : Наука, 1983.—151 с.
10. Калишевская Т. М., Голубева М. Г. Роль адренореактивных структур гипоталамуса в регуляции защитных реакций на плазмин // Физiol. журн. СССР.—1985.—71, № 1.—С. 418—421.

11. Коленда Ю. В., Вовчук С. В., Левицкий А. П. Влияние калликреина на развитие общего адаптационного синдрома // Патол. физиология и эксперим. терапия.— 1985.— № 4.— С. 52—54.
12. Киселев В. И., Рыжков А. А., Панченко А. Л. Роль калликреинкининовой системы в реализации гемодинамических эффектов катехоламинов // Физиол. журн. СССР.— 1981.— 67, № 4.— С. 561—567.
13. Локшина Л. А. Регуляторная роль протеолитических ферментов // Молек. биология.— 1979.— 13, № 6.— С. 1205—1229.
14. Матлина Э. Ш. Флуориметрический метод определения адреналина и норадреналина в крови // Методы клинической биохимии гормонов и медиаторов.— М.: Медицина, 1966.— С. 121.
15. Орехович В. Н., Елисеева Ю. Е. Энзимологические факторы регуляции сосудистого тонуса // Вестн. АМН СССР.— 1976.— № 9.— С. 42—47.
16. Панин Л. Е. Биохимические механизмы стресса.— Новосибирск : Наука, 1983.— 235 с.
17. Пасхина Т. С. Компенсаторные и патогенетические функции калликреиновой системы в норме и при некоторых заболеваниях // Вестн. АМН СССР.— 1982.— № 9.— С. 50—55.
18. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме.— М.: Медицина, 1960.— 146 с.
19. Рубанова Н. А. Биогенные амины и ферменты их преобразования в условиях гипоксии мозга разного генеза // Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Горький, 1971.— 38 с.
20. Эскин И. А., Щедрина Р. Н. Катехоламины и гипоталамическая регуляция системы гипофиз—кора надпочечников // Докл. АН СССР.— 1964.— 149, № 3.— С. 693—697.
21. Mussacio J. M., Lalond L., Kety S. S., Glowinski J. Increased rat brain tyrosine hydroxylase activity produced by electroconvulsive shock // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1969.— 63, N 5.— P. 1117.

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

Материал поступил в редакцию 03.12.87