

Э. М. КОГАН, Н. А. СМАЖНОВА, М. Г. ХОВАНСКАЯ

ДЫХАНИЕ, АЭРОБНЫЙ И АНАЭРОБНЫЙ ГЛИКОЛИЗ В ИНТАКТНОЙ И ДЕНЕРВИРОВАННОЙ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ КОШЕК

Как известно, биологическое значение окислительных превращений, связанных с потреблением кислорода и гликолиза, состоит в освобождении энергии, заключенной в молекуле глюкозы или гликогена, которая используется для различных физиологических и биохимических реакций, протекающих в клетках и тканях животных организмов.

Особенно интересным и все еще недостаточно изученным остается вопрос о механизме взаимоотношений дыхания и гликолиза, существенно отличающихся друг от друга энергетической эффективностью.

Наличие аэробного гликолиза рассматривалось ранее [1], как признак неполноценности дыхания, однако теперь установлено, что многие нормально функционирующие ткани способны образовывать молочную кислоту в присутствии кислорода [2]. Как правило, таким тканям свойственен обратный пастеровский эффект.

Из литературных данных известно, что легочная ткань теплокровных животных отличается от некоторых других тканей довольно низкой способностью использовать кислород [3, 4, 5]. Исследования И. В. Павловой [5], детально изучавшей углеводный обмен в легких, показали, что для них характерны многие реакции превращения углеводов, протекающие и в других тканях. Однако легкие имеют и свои метаболические особенности. Так, по ее данным [6] молочная кислота в анаэробных условиях в легочной ткани образуется из фруктозодифосфата интенсивнее, чем из глюкозы и гликогена.

Вопросы о способности легочной ткани образовывать молочную кислоту в аэробных условиях и о взаимоотношениях между дыханием, аэробным и анаэробным гликолизом в данном объекте в литературе освещения не имеют. Исследования этих процессов в таком органе как легкое, несущем высокую специфическую функциональную нагрузку как при физиологических, так и, особенно, при патологических состояниях представляет существенный теоретический интерес, а также важное практическое значение.

Что касается денервации, то изучение дыхания и гликолиза при ней относятся преимущественно к мышечной ткани [15, 16, 17, 18], которая морфологически существенно отличается от легочной. Денервация легких путем ваготомии приводит к своеобразным морфологическим и функциональным изменениям. Как известно, при перерезке блуждающих

нервов развивается, так называемая, вагусная пневмония, которая с давних пор привлекает внимание исследователей. Однако до настоящего времени механизм ее возникновения остается неясным. Изучение своеобразия морфофизиологических и биохимических процессов, протекающих в легочной ткани при воспалении после перерезки блуждающих нервов, может способствовать выяснению трофических влияний нервной системы, которые ведут к перестройке обменных процессов.

Предметом данной работы было изучение дыхания, аэробного и анаэробного гликолиза и их соотношения в ткани интактного легкого, на фоне 48 часового голодания и после двустороннего удаления чувствительных узлов блуждающих нервов.

Методика. Эксперименты проводились с сентября по ноябрь включительно, на 35 взрослых котах различного веса и возраста. Под эфирным наркозом у подопытных животных с обеих сторон удалялись чувствительные узлы блуждающих нервов. Такую операцию животные переносили тяжело. У них возникали резкие расстройства дыхательной функции—дыхание становилось медленным (4—6 раз в минуту), громким и хриплым. Учитывая паралитическое состояние гортани, животных мы не кормили. Больше 2—3 суток животные не выживали. Одновременно с опытными отсаживались контрольные животные, которых также не кормили.

Через 48 часов после операции подопытным и контрольным животным с помощью гильотины производилась декапитация. После декапитации легкое сразу же извлекалось, промывалось ледяным физиологическим раствором и ножницами измельчалось на льду. В связи с тем, что голодание оказывает на тканевое дыхание существенное влияние и на активность ферментных систем [7, 8 и др.], нами была взята еще группа контрольных животных, находящихся на нормальном рационе питания.

Поглощение кислорода и молочная кислота определялись в кашицах легочной ткани. Содержание молочной кислоты определялось в безбелковом фильтрате колориметрическим методом с параоксидифенилом [9].

Анаэробный гликолиз проводился в атмосфере азота; в аэробных условиях газовой средой служил воздух. Количество кислорода, потребляемое кашицей при инкубации, определялось манометрически в аппарате Варбурга. Время инкубации 60 мин., при температуре 37°C. Инкубационная смесь для определения количества поглощаемого кислорода для гликолиза имела следующий состав: 4 мл 1/15 М К—фосфатного буфера рН—7,3, $MgCl_2$ —0,012 М, АТФ—0,01 М, никотинамид—0,04 М, глюкоза—0,01 М, кашица легочной ткани 300 мг. Статистическая обработка экспериментального материала проводилась по методу И. А. Ойвина [10].

Для выявления взаимодействия между дыханием и гликолизом в легочной ткани при изучаемых нами состояниях организма, наряду с исследованием взаимоотношений между аэробно и анаэробно образующейся

ся молочной кислотой и потреблением кислорода, мы исследовали также тесно связанное с пастеровской реакцией явление — эффект Кребтри [11, 12].

Результаты исследований: При исследовании дыхания и гликолиза в легочной ткани интактных животных было установлено, что кашицам легочной ткани в нормальных физиологических условиях свойственно сосуществование анаэробного гликолиза и дыхания. При этом отмечалось низкое дыхание, наличие аэробного гликолиза по величине почти равного анаэробному и обратный пастеровский эффект. В табл. 1 при-

Таблица 1
Дыхание, аэробный и анаэробный гликолиз в интактной легочной ткани кошек

Статистический показатель	Потребление кислорода в мл/мг сухого веса		Прирост молочной кислоты в мг %		Величина пастеровского эффекта
	без глюкозы	+ глюкоза	в аэробных условиях	в анаэробных условиях	
$M = \frac{\sum V}{n}$	1,95	1,43	15,10	18,60	5,60
$\sigma \pm \sqrt{\frac{\sum \alpha^2}{n-1}}$	0,16	0,17	4,00	4,18	2,05
$m \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$	0,05	0,05	1,15	1,21	0,62
P	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
P разности	—	0,001	—	0,10	—
n	12	12	12	12	11

Примечание: M — среднее арифметическое,

$\sigma \pm$ — квадратичное отклонение от среднего арифметического,

$m \pm$ — квадратичная ошибка среднего арифметического,

P — разности — вероятность ошибки разности между количеством поглощенного кислорода без глюкозы и после добавления ее и между аэробным и анаэробным гликолизом.

n — количество исследований.

ведены статистически обработанные результаты исследований (на сухой вес ткани) количества поглощенного кислорода и прироста молочной кислоты в аэробных и анаэробных условиях и величина пастеровского эффекта, вычисленная по формуле Мейергофа [13].

Состав проб указан в методической части, в дальнейшем он будет везде одинаковым.

Величина пастеровского эффекта по Мейергофу выражается отношением разности в количестве молочной кислоты, образовавшейся в анаэробных и аэробных условиях, к количеству поглощенного кислорода, выраженному в эквивалентах молочной кислоты.

Из приведенных в таблице данных, видно, что потребление кислорода за 1 час инкубации без добавления глюкозы составило 1,95 мл/мг сухого веса ткани, после же добавления глюкозы оно снизилось на 27% (вероятность ошибки разности равна 0,1%). В аэробных условиях при-

рост молочной кислоты составил в среднем 81% от ее прироста в анаэробных условиях. Степень торможения гликолиза дыханием была незначительной и статистически недостоверной, напротив процесс гликолиза оказывал тормозящее влияние на дыхание (обратный пастеровский эффект, вероятность ошибки разности была равна 0,1%).

Для исключения воздействия голода на изучаемые показатели, была подвергнута исследованию вторая группа интактных животных после голодания в течение 48 час. В табл. 2 приведены результаты исследования кашиц легочной ткани интактных котов на фоне 48-часового голодания.

Таблица 2

Дыхание, аэробный и анаэробный гликолиз в интактной легочной ткани на фоне 48-часового голодания

Статистический показатель	Потребление кислорода в мл/мг сухого веса		Прирост молочной кислоты в мг %		Величина пастеровского эффекта
	без глюкозы	+ глюкоза	в аэробных условиях	в анаэробных условиях	
M	1,47	1,10	13,30	16,70	7,60
$\sigma \pm$	0,23	0,15	5,50	6,75	3,50
$m \pm$	0,07	0,05	1,49	1,95	1,06
P	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
P разности	—	0,001	—	0,20	—
P_1 разности	0,001	0,001	0,50	0,50	0,20
n	12	12	12	12	11

Примечание: P_1 разности — вероятность ошибки разности в норме и при голодании.

Полученные данные показывают, что в результате 2 суточного голодания снижалось количество поглощения кислорода инкубируемой тканью (вероятность ошибки разности была равна 0,1%). Содержание молочной кислоты как в аэробных, так и в анаэробных условиях снижалось незначительно. Это снижение было статистически недостоверным (вероятность ошибки разности была равна 50%).

Величина обратного пастеровского эффекта почти не изменялась. Так, количество потребляемого кислорода после добавления глюкозы снижалось на 25% (вероятность ошибки разности равна 0,1%). Прирост молочной кислоты в аэробных условиях составлял 79% от анаэробного

Полученные нами данные о снижении потребления кислорода в ранние сроки голодания согласуются с результатами исследований других авторов [7, 14 и др.]. Однако в отличие от ткани печени, мозга и некоторых других органов в легких при голодании в течение 48 часов гликолитический процесс существенно не изменяется. Такое явление, по-видимому, можно объяснить стабильностью гликолитического процесса, который является основным механизмом получения энергии в легких и существует независимо от снабжения их кислородом.

Третья серия исследований была проведена на 11 животных с денервированными легкими.

При гистологическом исследовании легочной ткани одним из авторов этой статьи [19] было установлено, что морфологические изменения в ней возникают уже в ранние сроки после операции (1—2 суток). Макроскопические изменения характеризовались массивным опеченением легких. Микроскопические исследования показали возникновение резкого отека альвеол, утолщение межальвеолярных перегородок, расширение капилляров и появление в них большого количества нейтрофильных лейкоцитов, которые затем проникали в легочную ткань. В дальнейшем эпителиальные клетки теряли признаки специфической дифференцировки, превращаясь в круглые элементы с сочными ядрами и большими ядрышками. Указанные явления составляли сущность процесса воспаления легочной ткани.

Исследования дыхания и гликолиза в денервированной ткани показали, что в кашлицах легких со слабо выраженными признаками воспаления выявлялись изменения качественного порядка, тогда как в кашлицах легких, пораженных интенсивным воспалительным процессом, обнаруживались резкие количественные сдвиги в гликолитическом процессе. В табл. 3 приведены результаты исследования дыхания, аэробного и анаэробного гликолиза в кашлицах денервированных легких у кошек (результаты исследований денервированной легочной ткани сравнивались с результатами исследований той же ткани голодающих кошек).

Так, у первой группы животных со слабыми очагами воспаления в легких почти не обнаруживалось изменений в количестве поглощаемого инкубированной тканью кислорода, а также в приросте молочной кислоты по сравнению с легкими интактных животных (табл. 2 и 3). Однако, как видно из данных табл. 3, в этой группе уже намечались заметные качественные сдвиги, которые выражались в исчезновении обратного пастеровского эффекта и в резком повышении его величины. Так, несмотря на то, что после добавления глюкозы количество поглощаемого кислорода снижалось на 18%, при статистической обработке результатов это снижение оказывалось недостоверным, что указывало на отсутствие обратного пастеровского эффекта. С другой стороны, прирост молочной кислоты в аэробных условиях составлял не 79% как в норме, а лишь 57 от анаэробного гликолиза, то есть в аэробных условиях намечалась некоторая степень торможения гликолиза.

Особенно наглядным показателем указанных сдвигов является величина пастеровского эффекта. Как видно из приведенных данных, у животных этой группы его значение увеличивалось на 143% по сравнению с интактными животными. У другой группы животных с денервированными легкими, с ярко выраженными признаками тяжелого воспаления легких, при инкубации кашлиц легочной ткани отсутствовало тормозящее влияние глюкозы на поглощение кислорода, повышалось потребление кислорода после добавления глюкозы по сравнению с нормой.

Т а б л и ц а 3

Дыхание, аэробный и анаэробный гликолиз в кашицах денервированной легочной ткани кошек

Статистический показатель	Потребление кислорода в мл/мг сухого веса		Прирост молочной кислоты в мг%		Величина пастеровского эффекта
	без глюкозы	+глюкоза	в аэробных условиях	в анаэробных условиях	
1 г р у п п а					
M	1,40	1,16	11,50	20,00	18,50
$\sigma \pm$	0,42	0,61	8,19	7,50	2,52
$m \pm$	0,21	0,30	4,09	3,75	1,26
P	0,01	0,05	0,05	0,01	0,001
P ₂ разности	0,50	0,50	0,50	0,50	0,001
n	4	4	4	4	4
2 г р у п п а					
M	1,25	1,54	18,30	28,40	21,20
$\sigma \pm$	0,39	0,50	4,32	7,20	15,60
$m \pm$	0,15	0,19	1,76	2,94	6,36
P	0,001	0,001	0,001	0,001	0,05
P разности	—	0,50	—	0,02	—
P ₂ разности	0,20	0,05	0,05	0,01	0,05
n	7	7	6	6	6

П р и м е ч а н и е: P₂ разности — вероятность ошибки между изучаемыми показателями у интактных (на фоне голода) и денервированных кошек.

увеличивался прирост молочной кислоты в аэробных и особенно анаэробных условиях.

Так, после добавления глюкозы к инкубируемой ткани количество поглощаемого кислорода увеличивалось на 23%, а не уменьшалось как у интактных животных; так же как и в первой группе животных обратный пастеровский эффект отсутствовал. В данном случае можно полагать, что субстратом дыхания служила глюкоза. Однако следует отметить, что увеличение дыхания после добавления глюкозы по сравнению с безглюкозными пробами у животных этой же группы было недостоверным (вероятность ошибки разности равна 50%).

На наш взгляд, интересные результаты были получены при исследовании гликолитического процесса. Так, величина аэробного гликолиза в кашицах денервированной легочной ткани увеличивалась на 36% (вероятность ошибки разности равна 5%), а прирост молочной кислоты в анаэробных условиях при этом увеличился на 70% (вероятность ошибки разности—1%), т. е. интенсивность анаэробного гликолиза была почти вдвое выше аэробного. Разность между приростом молочной кислоты в анаэробных и аэробных условиях у животных этой группы была статистически достоверной (вероятность ошибки разности равна 2%). Это обстоятельство заставляет делать заключение о торможении гликолиза в аэробных условиях или о возникновении пастеровского эффекта. Однако интенсивность аэробного гликолиза была достаточно высокой; по сравнению с анаэробным гликолизом она составляла 64,5%. Следовательно, дыхание по существу не блокировало гликолиз, поэтому возник-

новение достоверной разницы следует отнести только за счет увеличения интенсивности анаэробного гликолиза.

Обсуждение. Полученные данные показывают, что легочная ткань в нормальных физиологических условиях использует как окислительный, так и гликолитический процесс. Наряду с дыханием в ней существует интенсивный аэробный гликолитический процесс, который оказывает тормозящее влияние на окислительный обмен. Поглощение кислорода легочной тканью (1,95 мл/мг сухого веса) оказалось даже ниже, чем в лейкоцитах (5,7 мл/мг сухого веса по данным И. Ф. Сейца [2]). Аналогичные данные были получены ранее другими авторами [3, 4].

Таким образом, в легочной ткани значительно преобладает гликолитический обмен и можно полагать, что энергия в ней образуется в большей степени за счет гликолиза, чем дыхания.

В противоположность другим видам повреждений тканей и клеток (например, воздействие разобщающих ядов), которые обычно вызывают появление обратного пастеровского эффекта, вследствие усиления или появления аэробного гликолиза, денервация легких приводит к исчезновению существовавшего ранее обратного пастеровского эффекта. Это явление было установлено нами как в тканях с небольшими, так и с выраженными воспалительными очагами.

Наряду с этим повышается интенсивность как аэробного, так и анаэробного гликолиза. Повышение способности денервированной легочной ткани образовывать молочную кислоту в аэробных и анаэробных условиях из добавленной глюкозы позволяет допустить, что для получения энергии денервированное легкое усиленно использует глюкозу, поступающую в него с кровью.

Необходимо отметить, что в денервированном легком анаэробный гликолиз протекает почти в два раза интенсивней, чем аэробный. В результате этого появляется существенное различие между ними, которое могло бы указывать на появление пастеровской реакции. Однако анализ полученных данных, говорящих об усиленном расходовании углеводов и интенсивном накоплении молочной кислоты, противоречащих требованиям пастеровской реакции, не позволяет нам делать вывод о ее появлении.

Возникает вопрос, за счет каких структур легочной ткани происходит увеличение анаэробного гликолиза при денервации легких. Как уже отмечалось, в денервированном участке преобладают дисконплексируемые эпителиальные клетки альвеол и бронхов и нейтрофильные лейкоциты.

Следовательно, можно допустить, что либо эпителиальные клетки, либо лейкоциты оказывают влияние на перестройку обменных процессов при денервации легкого.

Однако против воздействия лейкоцитов на обмен в денервированной легочной ткани говорит отсутствие обратной пастеровской реакции, которая является неотъемлемой частью их обмена [2], а также тот факт, что увеличение их количества в единице объема, как показывают иссле-

дования И. Ф. Сейца, достоверно снижает поглощение кислорода больше, чем в два раза, а гликолиз больше, чем в три раза. Эти исследования относятся к изолированным лейкоцитам. Данные об изменениях обмена в лейкоцитах, участвующих в воспалительных реакциях в тканях в литературе не освещены.

Наряду с этим необходимо учитывать влияние воспалительной экссудации. Так, в работе А. Л. Вилковысского [20] приводятся данные по изучению дыхания и анаэробного гликолиза при воспалении легких у кроликов после введения культуры пневмококка I типа. Автор обнаружил при этом снижение количества поглощаемого кислорода и значительное повышение анаэробного гликолиза. Так как при пневмококковой пневмонии в очаге воспаления находятся преимущественно лейкоциты и экссудативный выпот, то можно предположить, что повышение анаэробного гликолиза в наших опытах с денервацией происходит за счет этих же факторов. Что касается эпителиальных клеток, то степень их участия в изменении гликолитического процесса в настоящее время установить не представляется возможным.

В ы в о д ы

1. При исследовании количества поглощаемого кислорода в присутствии глюкозы и без нее, а также аэробного и анаэробного гликолиза было установлено, что интактная легочная ткань кошек обладает отчетливым обратным пастеровским эффектом, интенсивным аэробным гликолизом по величине почти равном анаэробному. Аэробный гликолиз существует со слабым дыханием.

2. При голодании в течение 48 часов в интактной легочной ткани достоверно снижается количество поглощаемого кислорода. Прирост молочной кислоты при этом почти не изменяется.

3. В денервированной легочной ткани с незначительными очагами воспаления при инкубации выявляются изменения качественного порядка, характеризующиеся исчезновением обратного пастеровского эффекта и резким повышением величины пастеровского эффекта.

4. В денервированной легочной ткани с отчетливо выраженным воспалением при инкубации резко возрастает прирост молочной кислоты в аэробных и особенно в анаэробных условиях. Образование молочной кислоты в аэробных условиях тормозится по сравнению с анаэробными. Обратный пастеровский эффект также отсутствует.

Центральная Н.-И. лаборатория
и кафедра гистологии 2-го МГМИ
им. Н. И. Пирогова, Москва

Поступило 9.V 1964 г.

Է. Մ. ԿՈԿԱՆ, Ն. Ա. ՍՄԱԺՆՈՎԱ, Մ. Գ. ԽՈՎԱՆՍԿԱՅԱ

ՇՆՉԱՌՈՒԹՅՈՒՆ, ԱՆՐՈՐԱՅԻՆ ՈՒ ԱՆԱՆՐՈՐԱՅԻՆ ԳԼԻԿՈԼԻԶԸ ԿԱՏՈՒՆԵՐԻ ԻՆՏԱԿՏ ԵՎ ՆԵՐՎԱԶՐԿՎԱԾ ԹՈՔԵՐԻ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու մ

Աշխատության մեջ բերված են տվյալներ, որոնք վերաբերում են գլյուկոզայի ներկայությամբ ու բացակայությամբ, ինչպես նաև նորմալ ֆիզիոլոգիական պայմաններում, 48-ժամյա սովածության և թափառող ներվերի զգայական հանգույցների հեռացման դեպքում թոքային հյուսվածքում աերոբային և անաերոբային գլիկոզի ուսումնասիրությանը: Կատարված հետազոտությունների հետևանքով պարզված է, որ թոքային հյուսվածքի խյուսիրին ինկուբացիայի ժամանակ հատուկ է աերոբային գլիկոլիզի ու շնչառության համագորակցությունը, պաստիրյան էֆեկտը: Սովածության դեպքում ստուգապես իջնում է ինկուբացվող թոքային հյուսվածքի կողմից կլանվող թթվածնի քանակը: Թոքերի ներվազրկումից 48 ժամ հետո հակադարձ պաստիրյան էֆեկտը անհետանում է, աերոբային ու անաերոբային գլիկոլիզը ուժեղանում է: Կաթնաթթվի աճը աերոբ պայմաններում արգելակվում է անաերոբ պայմանների համեմատությամբ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Warburg O. Science, 123, 309, 1956.
2. Сейц И. Ф. Взаимодействие дыхания и гликолиза в клетке. Медгиз, 1961.
3. Baron E., Miller L. Bartlett G. J. Biol. chem. 171, 2, 791, 1947.
4. Тринчер К. С. Теплообразовательная функция и щелочность реакции легочной ткани. АН СССР, 1960.
5. Павлова И. В. Углеводно-фосфорный обмен и некоторые стороны азотистого обмена в легких крыс в норме и при экспериментальном силикозе. Автореф. докт. дисс. 1962.
6. Павлова И. В. Биохимия, 20, 1, 41—46, 1955.
7. Вацадзе Г. С. Сб. тр. посв. 50 лет. науч. педагог. деят. В. В. Воронина. Тбилиси, 96—103, 1941.
8. Громова К. Г. Вопросы мед. химии, 3, 2, 129—135, 1957.
9. Мешкова Н. П., Северин С. Е. Практикум по биохимии животных. М., 181, 1950.
10. Ойвинн И. А. Патол. физиол. эксп. терап. 4, 76, 1960.
11. Crabtree H. Bioch. J. 23, 536, 1929.
12. Gatt S., Krinsky L., Racker E. Federal. Proc., 15, 259, 1956.
13. Meyerhof O. Bloch. Zschr., 162, 43, 1925.
14. Копытин Б. М. Бюл. эксп. биолог. и мед. 30, 5, 336—338, 1950.
15. Зубенко П. М. В кн. Вопросы биохимии мышц. 149, 1954.
16. Victor J. Am. J. Physiol., 108, 229, 1934.
17. Теленева В. И. Вопр. мед. хим. 3, 6, 456, 1957.
18. Фердман Д. Л. В кн. Вопросы биохимии мышц. 113, 1954.
19. Коган Э. М. Арх. анат. гистол. эмбриол. 38, 6, 50, 1960.
20. Вилковеский А. Л. Тр. каф. патфизиол. Горьковск. госуд. мед. института. 107, 1941.