

С. А. ХАЧАТРЯН

СИСТЕМА «АДЕНОЗИНТРИФОСФАТ-АДЕНОЗИНТРИ- ФОСФАТАЗА» ПРИ ЛИХОРАДКЕ И ВЛИЯНИЕ ИНСУЛИНА ПРИ ЭТОМ

Макроэргические фосфорные соединения (АТФ, КФ) являются универсальным аккумулятором энергии, необходимым для нормального протекания самых разнообразных биохимических и физиологических процессов. Работами В. А. Энгельгардта [19, 20, 21] установлено, что накопление энергии в АТФ происходит гликолитическим и окислительным (дыхательным) фосфорилированием. Окислительное фосфорилирование осуществляется в высокоорганизованных субклеточных структурах—митохондриях, а гликолитическое фосфорилирование в основном в растворимых фракциях цитоплазмы.

Однако роль АТФ не ограничивается только энергетическим обеспечением существования деятельности живой клетки. АТФ способствует синтезу аминокислых белков, жирных кислот и углеводов [1, 17, 28, 30, 31]. Он усиливает процессы обезвреживания в организме путем усиления синтеза мочевины и гиппуровой кислоты [2, 26, 29], принимает участие в синтезе гормонов, медиаторов и коферментов [6, 9, 12, 25, 27].

В предыдущих работах [15, 16] нами было отмечено изменение углеводного обмена, понижение функции инсулярного аппарата и ослабленное действие введенного извне инсулина на показатели углеводного обмена при лихорадочных реакциях организма. Учитывая многогранную роль макроэргических фосфорных соединений, большое участие их в углеводном обмене, и в частности в процессах фосфорилирования и транспорта глюкозы, а также в механизме действия инсулина на углеводный обмен, нами предпринято изучение системы «аденозинтрифосфат-аденозинтрифосфатаза» при лихорадочных реакциях организма, а также под влиянием инсулина в этих условиях.

Изучение процесса сопряженного окислительного фосфорилирования при лихорадочных реакциях организма интересно в отношении изучения патогенеза лихорадки, уточнения механизмов повышения температуры тела при лихорадочной реакции организма и т. д. Несмотря на это, по этому вопросу в литературе нет достаточных данных.

Опыты ставились на 67 крысах весом 150—230 г. Объектом изучения служили мозг, сердечная мышца и печень. Исследования проводились при мезентериальной лихорадке, вызванной введением убитой бульонной культуры *bac. mesentericus*. Изучение количества АТФ и активности АТФ-азы производилось как при кратковременной лихорадке, вызванной после одного введения пирогенного вещества, так и более длитель-

ной, вызванной посредством множественных введений—через каждые 12 час., в течение трех суток.

Количество АТФ определялось электроколориметрическим методом по неорганическому фосфору, который расщепляется от легкогидролизуемой АТФ, находящейся в тканевом безбелковом фильтрате при гидролизе в течение 7 мин., и выражалась в мкг фосфора на 100 мг сырой ткани. Необходимая для данного анализа уксуснокислая ртуть получалась по методу, описанному Н. С. Дроздовым. Активность аденозинтрифосфатазы (АТФ-азы) органов определялась по методу Dubois a Potter с последующим определением неорганического фосфора, отщепившегося от АТФ по методу Фиске и Суббароу. В отличие от оригинального метода мы готовили не 10% раствор гомогенатов с последующим разбавлением, а сразу 1% раствор гомогената, которым и пользовались в своих опытах. Опыты ставились в малом объеме с двумя разными количествами ткани вместо двух тождественных параллельных проб, так как это обеспечивало лучшую проверку техники исследования. Активность АТФ-азы выражалась по количеству неорганического фосфора в мкг, отщепившегося от АТФ за 15 мин. на 1 мг свежей ткани в условиях 37°C.

Количество АТФ у здоровых крыс составляет в мозгу $14,41 \pm 0,902$ мкг Р, сердечной мышце— $25,42 \pm 1,171$ мкг Р и печени— $13,20 \pm 0,721$ мкг Р (табл. 1). Результаты исследований количества АТФ в органах у ли-

Таблица 1

Содержание АТФ (в мкг Р/100 мг свежей ткани) в органах здоровых и лихорадящих крыс

Характер опыта	Статистические обозначения	Мозг	Сердечная мышца	Печень
Здоровые крысы	$M \pm m$ пределы колебания σ n	$14,41 \pm 0,902$ (9,1—18,6) 2,85 (10)	$25,42 \pm 1,171$ (20,8—31,5) 3,70 (10)	$13,20 \pm 0,721$ (10,3—17,2) 2,28 (10)
Крысы с кратковременной лихорадкой	$M \pm m$ пределы колебания σ Р n	$9,90 \pm 0,582$ (7,1—12,6) 1,84 <0,01 (10)	$21,22 \pm 0,731$ (17,2—24,3) 2,31 <0,02 (10)	$10,54 \pm 0,487$ (8,3—13,7) 1,54 <0,01 (10)
Крысы с трехдневной лихорадкой	$M \pm m$ пределы колебания σ Р n	$13,68 \pm 1,102$ (9,5—18,6) 3,24 >0,5 (10)	$26,56 \pm 1,24$ (20,4—32,6) 3,93 >0,5 (10)	$14,21 \pm 0,81$ (10,8—18,6) 2,51 >0,5 (10)

хорадящих крыс показывают, что при лихорадке содержание АТФ в мозгу, сердечной мышце и печени уменьшается. Анализ полученных данных указывает, что в связи с удлинением лихорадочного периода количество АТФ в органах постепенно восстанавливается. Так, если при кратковременной лихорадке АТФ уменьшается в мозгу на 31,3%, в сердечной мышце на 16,5, в печени на 20,0%, то при трехдневной лихорадке количество АТФ в мозгу составляет $13,68 \pm 1,102$ мкг Р, в сердечной мышце—

26,56±1,24 мкг Р и в печени—14,21±0,81 мкг Р. Как видно, при кратковременной лихорадочной реакции количество АТФ уменьшается сравнительно мало в сердечной мышце, затем в печени, а больше всего в мозгу.

Параллельно с исследованием количества АТФ определялась также активность АТФ-азы в указанных органах крыс. Результаты этих исследований приведены в табл. 2.

Таблица 2

Активность АТФ-азы (в мкг Р/1 мг свежей ткани) органов здоровых и лихорадящих крыс

Характер опыта	Статистические обозначения	Мозг	Сердечная мышца	Печень
Здоровые крысы	$M \pm m$ пределы колебания σ n	7,99±0,421 (6,50—10,50) 1,33 (10)	26,38±0,971 (21,75—31,25) 3,07 (10)	11,84±0,614 (8,25—14,75) 1,94 (10)
Крысы с кратковременной лихорадкой	$M \pm m$ пределы колебания σ Р n	11,39±0,734 (8,50—15,25) 2,32 <0,01 (10)	34,53±1,440 (28,25—42,25) 4,55 <0,001 (10)	15,68±0,576 (13,0—18,50) 1,82 <0,001 (10)
Крысы с трехдневной лихорадкой	$M \pm m$ пределы колебания σ Р n	6,44±0,899 (5,25—8,00) 2,84 >0,2 (10)	19,93±1,035 (15,25—25,50) 3,27 <0,001 (10)	8,30±0,560 (6,25—11,50) 1,77 <0,001 (10)

Как видно из данных, наибольшей АТФ-азной активностью у контрольных крыс обладает сердечная мышца, затем печень и наименьшей—мозг. У нормальных крыс активность АТФ-азы в мозгу составляет 7,99±0,421 мкг Р, сердечной мышце—26,38±0,971 мкг Р, в печени—11,84±0,614 мкг Р.

Результаты исследований показывают, что АТФ-азная активность очень чувствительна к повышению температуры тела. Однако при этом отмечаются изменения фазового характера. При кратковременной лихорадочной реакции активность АТФ-азы повышается. В процентном отношении повышение активности АТФ-азы больше выражено в мозгу, а затем в сердечной мышце и в печени. Повышение активности АТФ-азы в начале лихорадки, очевидно, связано с повышением тонуса симпатической нервной системы, более выраженным в начальной стадии лихорадки и с повышением энергетического обмена. При более продолжительном течении (3 суток) лихорадки, наоборот, отмечается понижение АТФ-азной активности. Это понижение в лихорадящем организме по сравнению с контрольной группой отмечается в мозгу на 19,4%, сердечной мышце—на 24,5, печени—на 29,9%. Таким образом, при лихорадочных состояниях организма наряду с изменением содержания АТФ изменяется также активность АТФ-азы, что имеет большое значение в нарушении использования АТФ в органах лихорадящего организма.

В механизме понижения активности АТФ-азы в органах при лихо-

радочных состояниях организма, по нашему мнению, имеет значение состояние SH-групп в органах и тканях организма. В настоящее время показана исключительно важная роль SH-групп для функции АТФ-азы [10, 18, 22, 23, 32]. Нами [13] было отмечено, что при кратковременной лихорадочной реакции организма количество SH-групп в органах почти не меняется, отмечается некоторое уменьшение лишь в сыворотке крови, при трехдневной же лихорадке у крыс отмечается снижение количества SH-групп как в органах (мозг, печень, почки, скелетная мышца), так и в сыворотке крови. По всей вероятности, понижение активности АТФ-азы в органах при длительной лихорадочной реакции значительно связано с понижением содержания SH-групп. Учитывая литературные данные [7, 11] об активировании АТФ-азы мозга ионами магния в изменении активности АТФ-азы в органах лихорадящего организма, мы придаем значение также количественным сдвигам микроэлемента магния в различных органах при лихорадочной реакции организма. Как показывают данные наших исследований, при более длительной трехдневной лихорадке в органах (мозг, печень, сердечная мышца, скелетная мышца) уменьшается количество магния, а при кратковременной лихорадке (несмотря на уменьшение магния в крови, в органах) количество магния заметным изменениям не подвергается. Обращая внимание на характер изменений активности АТФ-азы и количества магния в органах, становится очевидной их взаимосвязь. В механизме понижения активности АТФ-азы при лихорадочных состояниях организма определенное значение придается также уменьшению количества ионов натрия и калия при нем. К этому предположению мы пришли исходя из литературных данных [7], указывающих на значение ионов натрия и калия в повышении активности АТФ-азы и данных наших исследований [14], выявивших снижение содержания ионов натрия и калия в крови при лихорадке.

Имея в виду характер изменений содержания АТФ и активности АТФ-азы в органах в разных периодах лихорадки, можно прийти к заключению, что уменьшение количества АТФ в органах при кратковременной лихорадке обусловлено в основном усилением распада АТФ вследствие повышения активности АТФ-азы. Однако при удлинении лихорадочной реакции, когда в органах понижается активность АТФ-азы и уровень содержания АТФ восстанавливается, очевидно, основное значение приобретает понижение синтетических процессов макроэргических фосфорных соединений и, в частности, АТФ. По нашему мнению, указанное приобретает особое значение в понимании патогенеза процесса повышения температуры тела при лихорадочной реакции организма. Раньше считали, что повышение температуры тела при лихорадке связано с повышением интенсивности энергетического обмена. Однако, как указывает П. Н. Веселкин [3, 4, 5], высокая температура тела при лихорадке может наблюдаться без повышения энергетического обмена, особенно при лихорадке, не осложненной значительной инфекцией и интоксикацией. При лихорадке, вызванной убитой культурой *bac. mesentericus*, Е. П. Здродовская [8] констатировала повышение температуры тела без

всякого усиления употребления кислорода, а при введении пирогенала с повышением температуры тела энергетический обмен понизился. В литературе имеются данные [24], свидетельствующие о снижении окислительного фосфорилирования в митохондриях печени крыс, отравленных динитрофенолом.

Изменения в системе «АТФ—АТФ-азы» имеют определенную ценность в понимании механизма нарушения углеводного обмена в организме при его лихорадочных реакциях. Установлено, что система «АТФ—АТФ-азы» принимает активное участие в транспорте глюкозы в тканях, что особенно четко отмечается в мозгу. Понижение активности АТФ-азы и ослабление синтетических процессов АТФ приводят к ослаблению поглощения глюкозы мозговой тканью при лихорадочных реакциях организма.

Во второй части наших исследований изучалось влияние инсулина на систему «АТФ—АТФ-аза» при лихорадочных реакциях организма. Как у здоровых (контрольных), так и у лихорадящих крыс инсулин вводился внутримышечно в дозе 0,6 ед/кг в течение трех суток, через каждые 12 часов (всего 6 инъекций). Исследование производилось через 2 часа после последнего введения инсулина.

Таблица 3

Действие инсулина на содержание АТФ (в мкг Р 100 мг свежей ткани)
в органах здоровых и лихорадящих крыс

Характер опыта	Статистические обозначения	Мозг	Сердечная мышца	Печень
Здоровые крысы	$M \pm m$ пределы колебания σ n	$14,41 \pm 0,902$ (9,1—18,6) 2,85 (10)	$25,42 \pm 1,171$ (20,8—31,5) 3,70 (10)	$13,20 \pm 0,721$ (10,3—17,2) 2,28 (10)
После шести введений инсулина здоровым крысам	$M \pm m$ пределы колебания σ P n	$16,71 \pm 0,963$ (12,3—21,6) 2,89 >0,1 (9)	$28,85 \pm 0,903$ (25,2—33,5) 2,71 <0,05 (9)	$14,26 \pm 0,847$ (9,4—17,2) 2,54 >0,2 (9)
Крысы с трехдневной лихорадкой	$M \pm m$ пределы колебания σ n	$13,68 \pm 1,102$ (9,5—18,6) 3,24 (10)	$26,56 \pm 1,24$ (20,4—32,6) 3,93 (10)	$14,21 \pm 0,81$ (10,8—18,6) 2,51 (10)
После шести введений инсулина лихорадящим крысам	$M \pm m$ пределы колебания σ P n	$14,34 \pm 0,56$ (11,6—16,2) 1,61 >0,5 (8)	$25,9 \pm 0,79$ (22,6—29,0) 2,24 >0,5 (8)	$12,85 \pm 0,76$ (10,2—16,4) 2,17 <0,2 (8)

Результаты исследований показывают (табл. 3), что введение инсулина у здоровых крыс увеличивает количество АТФ в мозгу, сердце и печени. Но это увеличение выражено слабо. Таким образом, несмотря на то, что инсулин увеличивает связывание неорганического фосфора и способствует быстрому образованию макроэргических фосфорных соединений, однако выраженного увеличения АТФ в органах не отмечается. Это

обстоятельство говорит о том, что наряду с повышенным образованием АТФ, очевидно, происходит также ее усиленный распад. И действительно, данные наших исследований относительно изменения АТФ-азной активности указывают, что инсулин повышает активность АТФ-азы (табл. 4), тем самым усиливая также процесс распада АТФ. Таким образом, инсулин, с одной стороны, способствует синтетическим процессам макроэргических фосфорных соединений, с другой, процессам их распада, усиливая этим энергетические процессы в определенных органах организма.

Таблица 4

Действие инсулина на активность АТФ-азы (в мкг Р/1 мг свежей ткани)
органов здоровых и лихорадящих крыс

Характер опыта	Статистические обозначения	Мозг	Сердечная мышца	Печень
Здоровые крысы	$M \pm m$ пределы колебания σ n	$7,99 \pm 0,421$ (6,50—10,50) 1,33 (10)	$26,38 \pm 0,971$ (21,75—31,25) 3,07 (10)	$11,84 \pm 0,614$ (8,25—14,75) 1,94 (10)
После шести введений инсулина здоровым крысам	$M \pm m$ пределы колебания σ P n	$12,48 \pm 0,841$ (8,25—16,00) 2,38 <0,001 (8)	$31,18 \pm 1,081$ (26,50—35,25) 3,06 <0,01 (8)	$16,56 \pm 0,809$ (12,50—19,25) 2,29 <0,001 (8)
Крысы с трехдневной лихорадкой	$M \pm m$ пределы колебания σ n	$6,44 \pm 0,899$ (5,25—8,00) 2,84 (10)	$19,93 \pm 1,035$ (15,25—25,50) 3,27 (10)	$8,30 \pm 0,560$ (6,25—11,50) 1,77 (10)
После шести введений инсулина лихорадящим крысам	$M \pm m$ пределы колебания σ P n	$7,18 \pm 0,484$ (5,75—9,25) 1,37 >0,2 (8)	$19,48 \pm 0,876$ (14,25—22,75) 2,48 >0,5 (8)	$8,18 \pm 0,431$ (6,75—10,50) 1,22 >0,5 (8)

В другой группе животных изучалось влияние инсулина на количество АТФ и активность АТФ-азы в указанных органах у лихорадящих крыс. Лихорадочное состояние вызывалось посредством внутримышечных введений *bac. mesentericus* и поддерживалось в течение трех дней. Результаты этих исследований (табл. 4) показывают, что у лихорадящих крыс инсулин не вызывает изменений количества АТФ в мозгу и в сердечной мышце, а содержание АТФ в печени даже снижается. Интерес представляют также результаты исследований активности АТФ-азы. Как видно из данных (табл. 4), под влиянием инсулина со стороны АТФ-азной активности в органах у лихорадящих собак заметных изменений не отмечается.

Учитывая сопряженное фосфорилирование в механизме действия инсулина, а также понижение обмена макроэргических фосфорных соединений при длительных лихорадочных реакциях организма наряду с понижением активности гексокиназы, приводящим к ослаблению фосфорилирования глюкозы, в механизме ослабленного действия инсулина на углеводный обмен при лихорадке определенную роль играет понижение

стимуляции инсулином окислительного фосфорилирования, перехода фосфора через клеточные мембраны и включения его в макроэргические фосфорные соединения.

Кафедра патологической физиологии
Ереванского медицинского института

Поступило 15.V 1967 г.

Ս. Ն. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ

**«ԱԴԵՆՈԶԻՆԵՐԵՔՏՈՍՖԱՏ-ԱԴԵՆՈԶԻՆԵՐԵՔՏՈՍՖԱՏԱԶԱ»
ՀԱՄԱԿԱՐԳՈՒԹՅՈՒՆԸ ՏՆԵԴԻ ԵՎ ՆՐԱ ԺԱՄԱՆԱԿ ԻՆՍՈՒԼԻՆԻ
ԱԶԴԵՅՈՒԹՅԱՆ ԴԵՊՔՈՒՄ**

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Փորձերի արդյունքները ցույց են տվել, որ առնետների մոտ տենդի ժամանակ քշանում է ադենոզիներեքսոսֆատի քանակը ուղեղում, արտամկանում և լյարդում: Ադենոզիներեքսոսֆատազայի ակտիվության կողմից կարճատև տենդի ժամանակ նկատվում է բարձրացում, իսկ երկարատևի (3 օր) ժամանակ, ընդհակառակը, իջեցում: Ադենոզիներեքսոսֆատազայի ակտիվության իջեցումը, հավանաբար, պայմանավորված է օրգաններում SH-խմբերի, ինչպես նաև մանգանի, նատրիումի և կալիումի քանակության քչացումով: Կարճատև տենդի ժամանակ ադենոզիներեքսոսֆատի քանակի քչացումը պայմանավորված է ադենոզիներեքսոսֆատազայի ակտիվության բարձրացումով: Երկարատև տենդի ժամանակ տենդի է ունենում նաև ադենոզիներեքսոսֆատի սինթեզման պրոցեսի թուլացում:

Ինսուլինի ներարկումները օրգաններում առաջացնում են ադենոզիներեքսոսֆատի քանակի թույլ արտահայտված շատացում և ադենոզիներեքսոսֆատազայի ակտիվության բարձրացում: Այսպիսով, ուժեղանում է մակրոէրգիկ ֆոսֆորային միացությունների փոխանակությունը: Դա թույլ ձևով արտահայտվում է օրգանիզմի տենդային հակազդման ժամանակ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бунятян Г. Х., Оганесян А. С. ДАН СССР, 2, 442, 1963.
2. Браунштейн А. Е., Ефимочкина Е. Ф. ДАН СССР, 2, 347, 1950.
3. Веселкин П. Н. В кн. Фосфорилирование и функция, Л., 327, 1960.
4. Веселкин П. Н. В кн. Физиологические механизмы лихорадочной реакции, Л., 29, 1957.
5. Веселкин П. Н. Физиол. журнал СССР, 47, 8, 1078, 1961.
6. Громова К. Г. В кн. Фосфорилирование и функция, Л., 284, 1960.
7. Демирчян А. А. Биологический журнал Армении АН АрмССР, XX, 1, 68, 1967.
8. Здродовская Е. П. В кн. Фосфорилирование и функция, Л., 336, 1960.
9. Ильин В. С. В кн. Фосфорилирование и функция, Л., 181, 1960.
10. Любимова М. Н., Энгельгард В. А. Биохимия, 4, 716, 1939.
11. Палладин А. В., Штутман Ц. М. Укр. биох. журнал, XX, 3, 311, 1948.
12. Утаевский А. М. В кн. Биохимия нервной системы. Киев, 247, 1954.
13. Хачатрян С. А. В кн. Некоторые вопросы патологии эндокринной системы. Ереван, 142, 1965.

14. Хачатрян С. А. В кн. Патол. физиология сердечно-сосудистой системы. Тбилиси, 1, 117, 1964.
15. Хачатрян С. А. Тр. Ереванского мединститута, XIV, 197, 1965.
16. Хачатрян С. А. Материалы научной конф. по проблеме Физиология и патология кортико-висцеральных взаимоотношений и функциональных систем организма, Иваново, т. 2, 433, 1965.
17. Шапот В. С. Успехи соврем. биологии, 37, 3, 255, 1954.
18. Шевес Г. С., Кобылин А. А. Биохимия, 16, 128, 1951.
19. Энгельгардт В. А., Любимова М. Н. ДАН СССР, 2, 3, 21, 1936.
20. Энгельгардт В. А., Баев А. А. ДАН СССР, нов. серия, 2, 8, 325, 1936.
21. Энгельгардт В. А. Изв. АН СССР, сер. биол., 4, 647, 1936.
22. Baron E. S. G., Singer T. P. J. Biol. Chem., 157, 221, 1945.
23. Bailey K., Perry S. V. Biochem. et Biophys. Acta. 1, 506, 1947.
24. Dianzani M. U., Dianzani M. A. Nature, 179, 532, 1957.
25. Feuer G., Wolleman M. Acta. physiol. acad. Sci. hung. 5, 3/4, 553, 1954.
26. Gross H., Kirnberger E. J. Klin. med. 151, 3, 206, 1954.
27. Hilz H., Linen F., Jones M. E. Lippmann F. J. Am. Chem. Soc. 75, 13, 3285, 1953.
28. Lecog R. Therapie, 8, 5, 698, 1953.
29. Lippmann F., Kaplan N. O. Ann. Rev. Biochem, 18, 267, 1949.
30. Witter R. F., Newcomb E. H., Stotz E. J. Biol. Chem. 200, 2, 703, 1953.
31. Zamecnik P. C., Keller E. B. J. Biol. Chem. 209, 1, 337, 1954.
32. Zitt M. J. Biol. Chem. 153, 25, 1944.