

С. А. ХАЧАТРЯН, Г. Г. АДАМЯН

СООТНОШЕНИЕ ОКИСЛЕНИЯ И ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ В МИТОХОНДРИЯХ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА СОБАК РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПРИ УМИРАНИИ И В РАННИЙ ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ ПЕРИОД ОЖИВЛЕНИЯ

В процессе умирания организма от смертельной кровопотери в митохондриях коры головного мозга собак различного возраста (1—2-месячных, 3—6-летних и свыше 13 лет) наблюдается прогрессирующее угнетение эндогенного, субстратного и фосфорилирующего дыхания и соответственное снижение коэффициентов P/O и P/t . Вышеуказанные сдвиги выражены сильнее у старых собак.

В ранний восстановительный период оживления в митохондриях коры головного мозга собак всех возрастных групп наблюдается восстановление эндогенного, субстратного и фосфорилирующего дыхания. Однако восстановление процессов окисления и фосфорилирования несколько отстает у старых животных.

Высокая функциональная активность коры головного мозга связана со значительными затратами энергии, источниками которой являются процессы окисления и восстановления [6, 11, 16]. Общеизвестно, что тканевое дыхание характеризуется накоплением фосфорных макроэргических соединений, синтез которых осуществляется с помощью реакций окислительного фосфорилирования, сопряженного с тканевым дыханием. Процессы переноса электронов в дыхательной цепи и сопряженные с ними реакции фосфорилирования тесно связаны с митохондриями [14, 18]. Около 80% всех окислительных и фосфорилирующих энзимов клетки сосредоточены в митохондриях.

Известно, что в фило- и онтогенезе энергетический обмен мозга претерпевает значительные изменения: повышается удельный вес дыхания относительно гликолиза [4, 15], организуются и синтезируются новые ферментные системы, переносящие электроны на кислород [2, 4, 10, 19], формируется цитоархитектоника мозга [3, 9], усиливается синтез макроэргических фосфатов [15].

В литературе есть указания, что в онтогенезе интенсивность поглощения кислорода и окислительное фосфорилирование постоянно повышаются, достигая максимального уровня к 60—90-му дню постнатального периода жизни крыс [13].

Из наших предыдущих работ следует, что в процессе умирания от смертельной кровопотери в коре головного мозга собак различного возраста уменьшается содержание макроэргических фосфатов, гликогена, падает активность АТФ-азы, α -глюкан-фосфорилазы [1, 12].

С целью выяснения причин уменьшения количества макроэргических фосфатов в коре головного мозга собак разного возраста при терминальных состояниях нами были поставлены опыты по изучению процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях коры головного мозга собак.

Наблюдения проводились на 30 собаках-самцах трех возрастных групп: 1) 1—2-месячных, 2) 3—6-летних, 3) свыше 13 лет.

У собак, находящихся под морфин-эфирным наркозом (морфин вводили парентерально за полчаса до опыта из расчета 0,5 мл/кг 1%-ного раствора), производилась трепанация черепа (для последующего взятия проб мозга), затем вызывалась клиническая смерть путем свободного смертельного кровопускания из бедренной артерии. Для предотвращения свертывания крови перед кровопусканием собакам вводили раствор гепарина. После 5-минутной клинической смерти проводилось оживление организма по комплексному методу В. А. Неговского [7, 8]. Пробы ткани брались на разных этапах умирания и восстановительного периода: в условиях морфин-эфирного наркоза, при агонии, на 5-й мин. клинической смерти и спустя час после оживления. Дыхание и окислительное фосфорилирование изучались в митохондриях коры головного мозга полярографическим методом. Выделение митохондрий в наших опытах производили в среде, содержащей маннит 0,21 М, сахарозу 0,075 М, ЭДТА 0,0002 М, трис 0,01 М, рН=7,4. Митохондрии получали по методу Восс и сотр. [20].

В наших исследованиях инкубационная среда содержала: маннит—0,25 М, трис—0,01 М, ЭДТА—0,0002 М, КСl—0,01 М, ФН—0,005 М, рН=7,4. Для изучения митохондрий мозга при различных функциональных состояниях мы применяли в качестве субстратов окисления сукцинат (10 мМ), глютамат (10 мМ) и акцептор фосфата—АДФ (250 мкМ).

Как показали результаты наших исследований, при морфин-эфирном наркозе в митохондриях коры головного мозга у щенков скорость эндогенного дыхания составляет $1,23 \pm 0,03$ микАО/сек. (микроатом-кислород/сек.), у взрослых— $1,10 \pm 0,04$ микАО/сек., а у старых собак— $0,95 \pm 0,03$ микАО/сек.

При терминальных состояниях нами констатировано достоверное замедление скорости эндогенного дыхания в митохондриях коры головного мозга ($P < 0,001$). Уже во время агонии скорость эндогенного дыхания в митохондриях замедляется во всех трех возрастных группах соответственно на 23,6; 28,2; 39,0%. На 5-й мин. клинической смерти наблюдается дальнейшее замедление эндогенного дыхания в коре головного мозга всех подопытных животных. Из полученных данных ясно видно, что замедление скорости эндогенного дыхания при умирании более выражено у старых животных, что связано, по-видимому, с большей чувствительностью их к гипоксии. К концу первого часа оживления в трех возрастных группах наблюдается постепенное восстановление скорости эндогенного дыхания в митохондриях коры головного мозга, которое составляет соответственно 82,2; 85,6; 69,4% исходной.

Таблица 1

Соотношение окисления и фосфорилирования в митохондриях коры головного мозга собак в возрастном аспекте
(10 mM сукцината, 250 мк М АДФ)

Показатели	Морфин-эфирный наркоз					А г о н и я				
	первая группа, $M \pm m$	вторая группа, $M \pm m$	P	третья группа, $M \pm m$	P	первая группа, $M \pm m$	вторая группа, $M \pm m$	P	третья группа, $M \pm m$	P
Эндогенное дыхание	1,23±0,03	1,10±0,04	<0,02	0,95±0,03	<0,02	0,94±0,03	0,79±0,02	<0,01	0,58±0,06	<0,01
Субстратное дыхание	1,58±0,03	1,36±0,02	<0,01	1,21±0,01	<0,001	1,32±0,03	1,18±0,02	<0,05	0,95±0,04	<0,001
Фосфорилирующее дыхание	1,96±0,06	3,60±0,07	<0,001	2,49±0,05	<0,001	1,38±0,04	2,01±0,01	<0,001	1,47±0,06	<0,001
P/O	1,18±0,07	1,86±0,05	<0,001	1,52±0,02	<0,001	1,02±0,03	1,62±0,04	<0,001	1,83±0,04	<0,001
DK	1,86±0,04	2,14±0,02	<0,001	1,75±0,05	<0,001	2,64±0,05	2,70±0,02	<0,2	2,44±0,06	<0,01
P/t	2,25±0,11	6,5 ±0,14	<0,001	4,5 ±0,13	<0,001	1,69±0,09	4,9 ±0,06	<0,001	2,3 ±0,07	<0,001

Таблица 2

Соотношение окисления и фосфорилирования в митохондриях коры головного мозга собак в возрастном аспекте
(10 mM сукцината, 250 мк М АДФ)

Показатели	5-я мин. клинической смерти					Через час после оживления организма				
	первая группа, $M \pm m$	вторая группа, $M \pm m$	P	третья группа, $M \pm m$	P	первая группа, $M \pm m$	вторая группа, $M \pm m$	P	третья группа, $M \pm m$	P
Эндогенное дыхание	0,55±0,04	0,38±0,04	<0,02	0,21±0,02	<0,01	0,98±0,02	0,82±0,03	<0,01	0,62±0,04	<0,01
Субстратное дыхание	0,92±0,04	0,63±0,02	<0,001	0,48±0,03	<0,001	1,30±0,03	1,15±0,01	<0,02	0,84±0,03	<0,001
Фосфорилирующее дыхание	0,99±0,06	1,24±0,04	<0,01	0,88±0,05	<0,001	1,38±0,05	2,83±0,04	<0,001	1,55±0,02	<0,001
P/O	0,97±0,05	1,16±0,07	<0,01	0,83±0,06	<0,001	1,11±0,08	1,75±0,05	<0,001	1,19±0,06	<0,001
DK	2,97±0,07	2,80±0,04	<0,01	2,68±0,03	<0,05	1,96±0,04	2,15±0,02	<0,01	1,84±0,04	<0,001
P/t	1,29±0,08	2,8 ±0,12	<0,001	1,95±0,05	<0,001	1,73±0,05	4,8 ±0,12	<0,001	2,65±0,08	<0,001

При умирании организма от смертельной кровопотери в митохондриях коры головного мозга животных всех возрастных групп наблюдаются значительные сдвиги со стороны субстратного и фосфорилирующего дыхания. При морфин-эфирном наркозе субстратное дыхание в митохондриях коры головного мозга у щенков протекает со скоростью $1,58 \pm 0,04$ микАО/сек., а фосфорилирующее— $1,96 \pm 0,06$ микАО/сек., у взрослых собак—соответственно $1,36 \pm 0,02$ и $3,60 \pm 0,07$ микАО/сек., а у старых— $1,21 \pm 0,01$ и $2,49 \pm 0,06$ микАО/сек.

Из вышеизложенного видно, что фосфорилирующее дыхание в митохондриях коры головного мозга щенков и старых собак протекает с меньшей скоростью, чем у взрослых. Можно предположить, что одной из причин этого является недостаточное развитие у щенков ферментных систем. Низкая скорость фосфорилирующего дыхания у старых собак обусловлена, по всей вероятности, падением интенсивности окислительных процессов в связи с угнетением активности ферментных систем и сморщиванием митохондрий.

На разных этапах умирания наблюдается прогрессирующее достоверное замедление скорости субстратного и фосфорилирующего дыхания в митохондриях коры головного мозга животных. Так, во время агонии в митохондриях коры головного мозга у щенков скорость субстратного дыхания снижается на 26,5, а фосфорилирующего—на 29,6%, у взрослых животных—соответственно на 23,3 и 44,2%, а у старых—на 21,5 и 41,0% по сравнению с исходной. На 5-й мин. клинической смерти наблюдается дальнейшее снижение скорости субстратного и фосфорилирующего дыхания (ниже исходной на 41,8 и 49,5%, у взрослых собак—на 53,7 и 65,6%, а у старых—на 60,6 и 64,7%).

Нами были выяснены возрастные особенности коэффициентов ДК, P/O (синтез АТФ на один микроатом кислорода) и P/t (синтез АТФ в одну секунду), носящих достоверный характер ($P < 0,001$).

На разных этапах умирания наблюдается прогрессирующее достоверное снижение коэффициентов P/O и P/t, и на 5-й мин. клинической смерти у щенков это снижение было соответственно на 17,8 и 43,6%, у взрослых собак—на 38,7 и 41,0%, а у старых—на 45,6 и 59,4%. В процессе умирания от смертельной кровопотери в митохондриях коры головного мозга всех подопытных животных наблюдается тенденция к повышению величины ДК.

Спустя час после восстановления кровообращения и самостоятельного дыхания наблюдается постепенное восстановление процессов окисления и фосфорилирования в коре головного мозга. Причем восстановление скорости субстратного и фосфорилирующего дыхания и коэффициентов P/O и P/t у взрослых происходит быстрее, чем в митохондриях коры головного мозга у щенков и у старых собак, а восстановление скорости эндогенного дыхания—у щенков.

Вышеприведенные данные получены при употреблении в качестве субстрата окисления сукцината. Аналогичные данные получены и при употреблении в качестве субстрата окисления глутамата, однако при

применении глутамата исходный уровень скоростей эндогенного, субстратного и фосфорилирующего дыхания, а также коэффициент P/O ниже исходного вышеуказанных показателей при употреблении сукцината. Исходная же величина коэффициента P/O , наоборот, ниже при употреблении в качестве субстрата сукцината.

В ы в о ы

1. Независимо от употребляемого субстрата окисления (сукцинат, глутамат) максимальная скорость эндогенного и субстратного дыхания обнаружена в митохондриях коры головного мозга щенков, а наибольшая скорость фосфорилирующего дыхания и коэффициент P/O и P/t — у взрослых собак.

2. При употреблении в качестве субстрата окисления сукцината в митохондриях коры головного мозга у собак разного возраста скорость эндогенного, субстратного, фосфорилирующего дыхания и коэффициент P/O выше, чем при употреблении глутамата.

3. В процессе умирания организма от смертельной кровопотери в митохондриях коры головного мозга собак всех возрастных групп снижается скорость эндогенного, субстратного и фосфорилирующего дыхания, в связи с чем уменьшаются и коэффициенты P/O и P/t , что более выражено у старых животных.

4. В ранний период оживления в митохондриях коры головного мозга у собак разных возрастов восстанавливаются процессы окисления и фосфорилирования. Нормализация эндогенного, субстратного и фосфорилирующего дыхания замедлена у старых животных.

Кафедра патофизиологии

Ереванского медицинского института

Поступила 1/III 1971 г.

Ս. Հ. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ, Գ. Գ. ԱԴԱՄՅԱՆ

**ՏԱՐԲԵՐ ՏԱՐԻՔԻ ԾՆԵՐԻ ՈՒՂԵՂԻ ԿԵՂԼԻ ՄԻՏՈՔՈՆՏՐԻԱՆԵՐՈՒՄ
ՕՔՍԻԴԱՑՄԱՆ ԵՎ ՖՈՍՖՈՐԻԼԱՑՄԱՆ ՓՈԽՆԱՐԱՔԵՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՕՐԳԱՆԻԶՄԻ
ՄԱՀԱՑՄԱՆ ԵՎ ՎԵՐԱԿԵՆԴԱՆԱՑՄԱՆ ՎԱՂ ՇՐՋԱՆՆԵՐՈՒՄ**

Ա մ փ ն փ ու մ

Տարբեր տարիքի շների ուղեղի կեղևի միտոքոնտրիաներում պոլյարոգրաֆիկ եղանակով որոշվել է օքսիդացումն ու ֆոսֆորիլացումը օրգանիզմի մահացման և վերակենդանացման վաղ շրջաններում: Պարզվել է, որ անկախ օգտագործված օքսիդացիոն ելանյութից (սաթաթթու, գլյուկոզա, գլյուտամինաթթու), էնդոգեն շնչառության ամենաբարձր արագությունը հայտնաբերվել է շան ձագերի մոտ, իսկ ֆոսֆորիլացնող շնչառության արագությունը ու P/O և P/t գործակիցների մեծությունը՝ հասուն շների մոտ: Օրգանիզմի մահացման պրոցեսում բոլոր տարիքի շների ուղեղի կեղևի միտոքոնտրիաներում իջնում է

ինչպես էնդոզն, ազատ և ֆոսֆորիլացնող շնչառութիւնների արագութիւնը, այնպես էլ P/O և P/t գործակիցների մեծութիւնը, որն առավել արտահայտված է ծեր շների մոտ:

Վերականգնացման վաղ շրջաններում տարիքային բոլոր խմբերի շների ուղեղի կեղևի միտոքոնդրիաններում հայտնաբերվել է օքսիդացման պրոցեսների աստիճանական վերականգնում, որն ավելի թույլ է արտահայտված ծեր շների մոտ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Адамян Г. Г. Автореферат дисс. канд. Ереван, 1970.
2. Вержбинская Н. А. Труды V Международного биохимического конгресса. М., 1962, стр. 403.
3. Волохов А. А. В кн.: Материалы научной конференции по возрастной морфологии и физиологии. М., 1953, стр. 35.
4. Крекс Е. М., Пигарева З. Д., Четвериков Д. А., Помазанская Л. Ф. Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова, 1952, 11, стр. 46.
5. Львова С. П. Автореферат дисс. канд. Ростов н/Д., 1965.
6. Мак-Ильвейн Биохимия и центральная нервная система. М., 1962.
7. Неговский В. А. Патопфизиология и терапия агонии и клинической смерти. М., 1954.
8. Неговский В. А. В кн.: Основы реаниматологии. М., 1966, стр. 6.
9. Образцова Г. А. Вопросы онтогенеза высшей нервной деятельности. М.—Л., 1954, стр. 167.
10. Пигарева З. Д. Тезисы докладов IV Всесоюзной конференции по биохимии нервной системы. Тарту, 1966, стр. 85.
11. Прохорова М. И. В сб.: Нервная система. Л., 1960, стр. 24.
12. Хачатрян С. А. Автореферат дисс. докт. Ереван, 1958.
13. Узбекова Г. А. Труды Рязанского медицинского института, т. 26. Рязань, 1965, стр. 6.
14. Brody I., Bain J. J. Biol. Chem., 1952, 195, 685.
15. Cohen M. M., Lin I. J. Neurochem., 1962, 9, 345.
16. Gibbs E. L., Lennox W. G., Nims L. F., Gibbs F. A. J. Biol. Chem., 1942, 144, 325.
17. Heald P. J. Phosphorus metabolism of brain. Oxford, Pergamon Press, 1960.
18. Killey W., Killey R. J. Biol. Chem., 1953, 200, 213.
19. Mendel P., Bleth R., Wall J. O. Pergamon Press, 1957.
20. Potter V. R., Schnelder B. S., Liebl C. J. Cancer Research., 1945, 4, 21.
21. Voss D. O., Campello A. P., Bacilla M. Biochem. Biophys. Res. Commun, 3, 1961, 4, 1, 48.