

УДК 612.172+616.127+616—001.28+617—001.28

М. А. МОВСЕСЯН, Д. Е. АРУТЮНЯН

К ВОПРОСУ СОСТОЯНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА В СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЕ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ ЛУЧЕВОЙ БОЛЕЗНИ РАЗЛИЧНОЙ ТЯЖЕСТИ

На основании исследования количества АТФ, КФ и активности фермента АТФ-азы, а также процессов окислительного фосфорилирования (полярографическим методом) авторы пришли к выводу, что при острой лучевой болезни в сердечной мышце крыс энергетический обмен страдает нерезко и выявленные незначительные изменения не могут являться причиной возникновения сердечно-сосудистой недостаточности.

Сердечная мышца работает непрерывно в течение всей жизни, поэтому биохимической основой ее деятельности является образование энергии и утилизация ее для мышечного сокращения. Следовательно, при биохимических исследованиях сердца особое значение приобретает изучение состояния энергетического обмена. Этот вопрос при лучевой патологии освещен весьма недостаточно, что и послужило основанием для проведения данной работы.

В настоящее время общепризнано, что в процессе обмена углеводов, жиров и белков расщепленная энергия вначале кумулируется в особых химических соединениях, называемых макроэргами. Среди последних особое место занимают аденозинтрифосфорная кислота (АТФ) и креатинфосфат (КФ).

Источником излучения ионизирующей радиации служил рентгено-терапевтический аппарат РУМ-11 при следующем режиме и условиях работы: напряжение тока—187 кв, сила—15 мА, фильтры—0,5 мм меди+1,0 мм алюминия, кожно-фокусное расстояние—40 см, мощность дозы (рассчитано в воздухе)—30 р/мин. В первой серии опытов животные подверглись общему однократному облучению в дозе 500 р, во второй—1000 р. Как показали контрольные опыты, в первой серии животные страдали острой лучевой болезнью легкой степени, смертельных случаев не наблюдалось, а во второй—тяжелой со смертельным исходом.

Содержание АТФ и КФ определялось на белых крысах весом 180—200 г по методу Д. Л. Фердмана и Е. Ф. Сопина [6]. Для определения активности АТФ-азы пользовались методом Бонтига [7]. Активность фермента выражалась в мг Р в 1 г сердечной ткани при инкубации—37° в течение 22 мин. Результаты этих исследований приводятся в табл. 1 и 2.

Из полученных данных видно, что как при облучении 500 р, так и 1000 р содержание АТФ умеренно повышается, а КФ, наоборот, снижается. Можно допустить, что повышению количества АТФ способствует распад КФ, ибо существует связь между процессом дефосфорилирова-

Таблица 1

Содержание Р АТФ и Р КФ и активность АТФ-азы в норме
и после облучения в дозе 500 р

Сроки исследований	Количество проб	Исследуемые показатели					
		Р АТФ в мг %		Р КФ в мг %		АТФ-аза в мг/г ткани	
		M±m	P	M±m	P	M±m	P
В норме	7	17,7±1,5 100%	—	4,0±0,26 100%	—	0,45±0,06 100%	—
Через 10—15 мин.	7	19,0±2,2 106,0%	>0,5	3,0±0,58 75%	<0,1 >0,05	1,06±0,09 235,1%	<0,001
Через 2 ч.	5	20,5±2,2 111,0%	>0,2	4,0±0,38 95,0%	>0,5	1,16±0,13 257,7%	<0,001
Через 24 ч.	6	17,4±2,3 100,0%	>0,5	3,8±0,37 95,0%	>0,5	0,72±0,06 160,0%	<0,02 <0,001
4-й день	7	31,0±3,6 172,0%	<0,01	3,3±0,46 82,0%	0,2 >0,02	0,87±0,07 190,3%	0,1
7-й день	6	13,7±1,7 77,7%	<0,1 >0,05	3,0±0,2 75%	<0,05	0,37±0,08 66,6%	<0,1
10-й день	7	21,7±1,6 122%	0,1	4,4±0,5 110%	>0,5	0,80±0,2 177,7%	>0,05
15-й день	6	23,5±5,2 127,7%	<0,2 >0,1	2,8±0,03 70%	<0,001	0,60±0,1 133,3%	0,1

Примечание. Для каждой пробы использовались сердца 4 крыс.

Таблица 2

Содержание Р АТФ, Р КФ и активность АТФ-азы в норме и после облучения
в дозе 1000 р

Сроки исследований	Кол. проб	Р АТФ в мг %		Р КФ в мг %		АТФ-аза в мг/г ткани	
		M±m	P	M±m	P	M±m	P
В норме	7	17,7±1,5	—	4,0±0,26 100%	—	0,45±0,06	—
Через 10—15 мин.	6	19,8±2,9 111,0%	>0,5 0,05	4,0±0,8 100%	>0,5	0,64±0,08 142,0%	>0,05 <0,1
Через 2 ч.	6	23,4±1,6 130%	<0,2	3,5±0,28 87,5%	0,2	0,50±0,04 111,1%	>0,5
Через 24 ч.	6	25,0±4,0 138%	>0,1	3,0±0,4 75,0%	0,05	0,41±0,1 91,1%	>0,5
На 4-й день	6	29,6±2,5 164,4%	<0,001	1,8±0,2 45%	<0,001	0,41±0,1 91,1%	>0,5

Примечание. Для каждой пробы использовались сердца 4 крыс.

ния КФ и ресинтезом АТФ: $\text{КФ} + \text{АДФ} \rightleftharpoons \text{Кр} + \text{АТФ}$. По-видимому, при лучевой болезни расходование КФ для синтеза АТФ более целесообразно. Можно предполагать также, что при острой лучевой болезни происходит перераспределение АТФ: из скелетной мышцы и других органов она поступает в кровь и накапливается в сердечной мышце, кото-

Таблица 3

Результаты исследований показателей дыхания в митохондриях сердечной мышцы крыс в различные сроки после общего однократного рентгеновского облучения в дозе 500 р

Исследуемые показатели	Субстрат	Контроль (необлучен.)		Сроки после облучения																	
				2 ч			24 ч			4-й день			7-й день			10-й день			15-й день		
		M±m	n	M±m	n	P	M±m	n	P	M±m	n	P	M±m	n	P	M±m	n	P	M±m	n	P
СД	Сукцинат	4,02±0,37	7	5,44±1,71	6	>0,5	3,45±0,27	6	0,2	4,51±1,22	5	0,5	7,0 ±0,66	5	0,01	5,84±0,56	5	0,05	2,92±0,21	5	0,05
	Глутамат	3,20±0,13	8	3,01±0,43	6	>0,5	2,05±0,38	6	<0,02	3,22±0,60	7	>0,5	3,10±0,39	6	>0,5	4,19±0,93	5	>0,5	2,64±0,53	7	0,2
	Глюкоза	2,65±0,15	10	2,75±0,18	6	>0,5	2,05±0,22	6	0,1	3,84±0,77	7	0,2	2,35±0,2	6	0,5	4,17±0,50	5	0,05	2,38±0,41	5	0,5
ФД	Сукцинат	4,97±0,64	9	3,20±0,26	6	0,05	4,31±0,37	6	>0,5	5,30±0,71	5	>0,5	4,61±0,2	5	>0,5	4,21±0,56	5	>0,5	4,38±0,27	5	0,5
	Глутамат	4,23±0,43	8	3,92±0,45	6	>0,5	3,39±0,57	6	0,5	5,28±0,26	7	0,2	4,41±0,35	6	>0,5	4,71±0,91	5	>0,5	3,75±0,88	6	0,5
	Глюкоза	1,80±0,17	8	0,94±0,04	6	<0,001	1,27±0,09	6	0,01	5,28±1,05	5	<0,01	4,10±0,9	5	0,01	3,60±0,78	5	0,05	0,92±0,04	5	0,01
Р/О	Сукцинат	1,83±0,24	7	1,73±0,33	6	>0,5	2,72±0,31	6	0,05	2,84±0,28	5	0,01	1,30±0,08	5	0,05	1,59±0,21	5	0,5	—	—	—
	Глутамат	1,51±0,23	8	1,0 ±0,04	6	<0,05	1,26±0,1	6	0,1	1,86±0,31	7	>0,5	1,15±0,10	6	0,2	1,08±0,03	5	<0,1	1,14±0,004	5	<0,1
	Глюкоза	2,16±0,10	8	2,10±0,30	6	>0,5	2,23±0,18	6	>0,5	2,28±0,20	5	<0,01	—	—	—	1,51±0,17	5	>0,05	—	—	>0,05
ДК	Сукцинат	1,60±0,19	7	1,10±0,50	6	>0,5	2,01±0,38	6	0,5	3,20±0,43	5	0,01	1,54±0,48	5	>0,5	1,60±0,20	5	>0,5	3,22±0,05	5	0,01
	Глутамат	1,30±0,12	8	1,20±0,07	6	>0,5	1,20±0,05	6	>0,5	2,30±0,54	7	0,05	1,0 ±0,04	6	0,01	1,34±0,17	5	>0,5	1,26±0,04	6	>0,5
	Глюкоза	1,30±0,14	8	1,10±0,09	6	0,2	1,30±0,10	6	>0,5	2,40±0,65	5	>0,1	—	—	—	1,16±0,06	5	0,2	1,24±0,05	5	>0,5
Р/т	Сукцинат	20,10±1,47	7	18,67±1,68	6	>0,5	12,49±1,37	6	<0,01	15,82±1,67	5	<0,05	14,0±0,87	5	<0,01	13,30±1,39	5	0,01	—	—	—
	Глутамат	6,26±0,37	8	7,08±1,60	6	>0,5	3,68±0,90	6	<0,05	9,55±1,44	7	<0,05	5,18±0,60	6	0,2	6,18±1,24	5	0,5	5,55±0,71	5	0,5
	Глюкоза	6,10±0,55	8	3,76±0,26	6	0,01	4,48±0,25	6	0,05	9,50±1,35	5	<0,05	—	—	—	5,40±2,0	5	0,5	—	—	—

Примечание. n—число проб. Для каждой пробы использовались сердца 4 крыс.

рая больше нуждается в обеспечении АТФ. Не исключается также возможность некоторого усиления распада АДФ (аденозиндифосфорной кислоты) и образования АТФ. Известно, что в присутствии фермента миокиназы происходит следующая реакция: $2 \text{ АДФ} \rightleftharpoons \text{АТФ} + \text{АМФ}$ (аденозинмонофосфат или адениловая кислота). Это также может способствовать повышению содержания АТФ в сердечной мышце облученных крыс. Однако эти предположения нуждаются в дальнейшей экспериментальной проверке.

Необходимо отметить, что ресинтез АТФ сопряжен в основном с гликолизом и окислительным фосфорилированием. Основным механизмом образования АТФ в сердечной мышце является окислительное фосфорилирование, которое происходит в митохондриях. Поэтому на следующем этапе наших исследований как у интактных, так и у облученных (в одинаковых условиях и дозах) животных в митохондриях, выделенных из сердечной мышцы, полярографическим методом исследовали эндогенное дыхание (ЭД), свободное дыхание (СД), фосфорилирующее дыхание (ФД), дыхательный контроль (ДК), скорость синтеза АТФ (P/t), отношение эстерифицированного неорганического фосфора к поглощенному кислороду (P/O).

Полярографические исследования проведены на 272 крысах, из коих 40—контрольные, а остальные—облученные. В каждый опыт брали 2 г сердечной мышцы 4 крыс и готовили гомогенат. Как взвешивание, так и гомогенизацию проводили в условиях холода. Митохондрии выделяли по методу Восса [9].

Среда выделения (СВ) имела следующий состав: сахара—300 мМ, трис—20 мМ, ЭДТА—0,2 мМ, РН—7,4. Митохондрии инкубировались в следующей среде: сахара—20 мк М, трис—30 мк М, MgCl_2 —0,5 мк М, ЭДТА—0,2 мк М, KCl —10 мк М, ФН—2 мк М.

В качестве источника неорганического фосфора использовали KH_2PO_4 . Для характеристики дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях определялись скорость дыхания в мк АО /сек/ литр, величины ДК, P/O и P/t . Результаты указанных исследований зависят как от дозы облучения и стадии лучевой болезни, так и от применяемых субстратов окисления (табл. 3, 4).

При облучении 500 р (легкая степень острой лучевой болезни) происходит следующее:

1. При применении сукцината СД в митохондриях сердечной мышцы в течение первых четырех дней не изменялось, затем наступало фазовое изменение его величины: вначале повышение (данные опытов 7—10-го дня), а затем—снижение (результаты опытов 15-го дня). В опытах, где в качестве субстрата окисления применяли глутамат, полученные данные резко отличались от предыдущих. Заметных изменений СД в присутствии глутамата не отмечалось. Лишь через 24 ч. после облучения имело место снижение величины СД. Статистически достоверных изменений СД не отмечалось в исследованиях, где в качестве субстрата окисления применяли глюкозу.

Таблица 4

Результаты исследований показателей дыхания митохондрий сердечной мышцы крыс в различные сроки после общего однократного рентгеновского облучения в дозе 1000 р

Показатель	Субстраты	Контроль		После облучения через								
				2 ч.			24 ч.			4-й день		
		M ± m	n	M ± m	n	P	M ± m	n	P	M ± m	n	P
СД	Сукцинат	4,02±0,37	7	8,06±0,25	5	<0,001	2,72±0,05	5	0,01	2,30±0,19	5	<0,01
	Глутамат	3,20±0,13	8	3,37±0,30	6	>0,5	3,05±0,53	7	>0,5	1,95±0,39	6	<0,01
	Глюкоза	2,65±0,23	10	2,79±0,16	7	>0,5	2,52±0,29	6	>0,5	2,20±0,32	6	>0,05
ФД	Сукцинат	4,97±0,64	9	4,04±0,15	5	0,2	4,89±1,02	5	0,5	3,01±0,63	5	0,05
	Глутамат	4,23±0,43	8	4,82±0,40	6	>0,5	5,43±0,49	7	0,5	2,96±0,42	5	<0,05
	Глюкоза	1,82±0,17	8	0,80±0,05	7	<0,001	3,35±0,84	6	<0,05	2,07±0,48	6	>0,5
Р/О	Сукцинат	1,83±0,24	7	1,43±0,14	5	0,2	2,10±0,18	5	>0,5	2,37±0,30	5	0,2
	Глутамат	1,51±0,23	8	1,03±0,05	6	0,05	1,09±0,14	7	0,1	1,13±0,02	6	0,1
	Глюкоза	2,16±0,10	8	1,92±0,31	7	0,5	2,20±0,30	5	>0,5	2,67±0,34	5	0,2
Д/К	Сукцинат	1,60±0,19	7	1,10±0,04	5	0,05	3,55±0,05	5	<0,001	2,26±0,53	5	0,5
	Глутамат	1,30±0,12	8	1,3±0,15	6	>0,5	1,58±0,31	7	>0,5	1,70±0,49	6	0,5
	Глюкоза	1,30±0,14	8	1,0±0,08	7	0,05	1,7±0,45	6	>0,5	1,10±0,08	6	>0,2
Р/т	Сукцинат	20,10±1,47	7	11,30±0,50	5	<0,001	13,0±1,19	5	<0,01	10,62±2,62	5	<0,01
	Глутамат	6,26±0,37	8	4,90±0,56	6	<0,05	8,61±1,23	7	0,05	11,07±1,70	7	>0,01
	Глюкоза	6,10±0,55	8	3,90±0,10	7	<0,01	7,07±1,01	6	>0,5	4,98±0,22	5	0,1

Примечание. n—число проб; для каждой пробы использовались сердца 4 крыс.

2. Изменения ФД митохондрий сердца после лучевого воздействия выявлены при применении в качестве субстрата окисления сукцината и глюкозы. В присутствии глюкозы наблюдалось явное волнообразное изменение: снижение ФД с последующим его повышением, однако в дальнейшем, на 15-й день, вновь отмечалось снижение. А при сукцинате ФД снижалось лишь через 2 ч. после облучения, в другие сроки изменений не отмечалось. При применении глутамата изменений фосфорилирующего дыхания не выявлялось.

3. После облучения сравнительно выраженные изменения коэффициента Р/О в митохондриях сердечной мышцы крыс отмечались в присутствии субстратов окисления сукцината и глюкозы. В последнем случае Р/О на 4-й день опыта умеренно повышался, а в последующие сроки наблюдалось его уменьшение. При применении сукцината также имеет место двухфазное изменение коэффициента Р/О, однако фаза повышения наступает сравнительно раньше (через 24 ч. после облучения). При применении глутамата Р/О достоверно снижался через 2 ч., в последующие сроки (24 ч., 10- и 15-й день после облучения) отмечалась тенденция к снижению ($P > 0,05 < 0,1$).

4. Величина ДК митохондрий миокарда на 4-й день после облучения повышалась при применении всех трех субстратов окисления. Но при сукцинате увеличение ДК отмечалось на 15-й день после лучевого воздействия, а при глутамате фаза увеличения сменялась фазой снижения на 7-й день. В другие сроки изменений ДК не отмечалось.

5. Наиболее четкие изменения в митохондриях сердца облученных крыс наблюдались при определении величины Р/t. Указанная величина в митохондриях сердца изменялась при всех испытуемых субстратах окисления. В присутствии сукцината величина Р/t после облучения постепенно, но значительно снижалась, а в присутствии глутамата и глюкозы отмечалось волнообразное изменение: в течение первых суток после облучения величина Р/t снижалась, на 4-й день лучевой болезни она увеличивалась, в последующие сроки исследований Р/t находилась в пределах нормального уровня.

При 1000 р облучения (тяжелая степень острой лучевой болезни) отмечается следующее:

1. СД на 4-й день после облучения уменьшается при всех применяемых субстратах окисления. Необходимо отметить, что при применении сукцината понижение СД выявляется через 24 ч. после облучения, ему предшествует кратковременное повышение (через 2 ч. после облучения).

2. ФД понижается также на 4-й день облучения, однако это наблюдается в опытах, где в качестве субстрата окисления применяли сукцинат и глутамат. Величина ФД при применении глюкозы была нестойкой.

3. Изменение Р/О выявлялось лишь при применении глутамата.

4. ДК в митохондриях сердца облученных крыс снижался через 2 ч. после облучения, а в остальные сроки исследований изменений не отмечалось.

5. Явное снижение P/t наблюдалось во всех сроках исследования в опытах, где в качестве субстрата окисления применяли сукцинат. В присутствии же глюкозы имело место незначительное и непостоянное снижение P/t . В опытах, где в качестве субстрата окисления применяли глутамат, P/t после кратковременного незначительного снижения заметно повышался.

Полученные данные не дают права утверждать, что повышение содержания АТФ в сердечной мышце, наблюдаемое в отдельные сроки после облучения, связано с ускорением ее синтеза. В наших опытах коэффициент P/t , являющийся показателем скорости синтеза АТФ, при применении в качестве субстрата окисления сукцината и глюкозы уменьшается. Правда, при применении глутамата наблюдается тенденция к незначительному повышению коэффициента P/t . Данные исследования ФД также не говорят об усилении синтеза или ресинтеза АТФ. Этот показатель при тяжелой степени острой лучевой болезни (1000 р) в опытах с применением сукцината и глутамата постепенно снижался (на 4-й день после облучения), а в опытах, где в качестве субстрата окисления применялась глюкоза, ФД то понижалось (через 2 ч.), то повышалось (через 24 ч.). При легкой степени острой лучевой болезни (500 р облучения) в митохондриях сердечной мышцы фосфорилирующее дыхание в опытах с применением сукцината и глутамата не изменялось, с глюкозой характер изменений был волнообразным: в ближайшие часы (2—24 ч) после облучения—понижение, на 4—10-й день—повышение и затем вновь понижение.

Таким образом, некоторое повышение содержания АТФ в сердечной мышце, наблюдаемое в отдельные сроки после облучения крыс, мы не можем приписать усиленному ее образованию в процессе окислительного фосфорилирования. Интересен тот факт, что некоторое повышение содержания АТФ, наблюдаемое после облучения в дозе 500 р, имеет место в условиях повышения активности фермента АТФ-азы.

Ряд авторов [1, 4, 5, 8] считает, что при облучении в первую очередь страдают процессы биологического окисления, ответственные за выработку энергии, что, в свою очередь, приводит к подавлению всех без исключения функций организма. Мы не можем отрицать факт некоторого нарушения, наступающего в окислительно-восстановительных процессах. Эти нарушения относятся также и к изменениям активности отдельных ферментов, принимающих участие в указанных процессах, выраженных в одних органах больше, в других меньше. Результаты опытов, проведенных нами, не говорят о резком нарушении образования энергии в сердечной мышце. Хотя свободное и фосфорилирующее окисление при отдельных субстратах окисления в наших исследованиях было изменено, но в целом образование энергии резко не страдало. Во всяком случае, у облученных крыс мы не наблюдали таких изменений в энергетическом обмене миокарда, которые были бы несовместимы с нормальным функционированием сердца. Следовательно, изменения, наблюдаемые в окислительно-восстановительных процессах у этих жи-

вотных, не являются основным ключом к объяснению патогенеза поражения сердца при острой лучевой болезни.

Армянский научно-исследовательский институт
рентгенологии и онкологии МЗ Арм. ССР

Поступила 20/V 1972 г.

Մ. Ա. ՄՈՂՍԻՅԱՆ, Ջ. Ե. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

ՏԱՐԲԵՐ ԾԱՆՈՒԹՅԱՄԲ ԸՆԹԱՑՈՂ ՍՈՒՐ ԺԱՌԱԳԱՅԹԱՅԻՆ
ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՍՐՏԱՄԱԿԱՆՈՒՄ ԷՆԵՐԳԵՏԻԿ
ՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՀԱՐՑԻ ՇՈՒՐՋԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Սպիտակ առնետների մոտ առաջ է բերվել տարբեր ծանրությամբ ընթացող սուր ճառագայթային հիվանդություն և ուսումնասիրվել սրտամկանում էներգետիկ փոփոխության մի շարք ցուցանիշները՝ ԱՏՖ-ի և ԿՖ-ի քանակը, ԱՏՖ-ազլալի ակտիվությունը, օքսիդացված ֆոսֆորիլացումը (էնդոգեն շնչառությունը, ֆոսֆորիլացնող շնչառությունը, շնչառական ստուգիչը, ԱՏՖ-ի սինթեզի արագությունը և P/O-ն: Ստացված արդյունքները ցույց են տվել, որ ճառագայթահարված կենդանու սրտամկանում էներգետիկ փոփոխությունները այնքան էլ մեծ չեն, և նրանք չեն կարող պատճառ դառնալ սրտում տեղի ունեցող այն մորֆոլոգիական ու ֆունկցիոնալ մեծ փոփոխություններին, որոնք նկարագրվել են ինչպես մեր նախորդ աշխատանքներում, այնպես էլ հայրենական ու արտասահմանյան բազմաթիվ հեղինակների կողմից:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бак Ц. и Александер П. Патологическая биохимия облученных организмов. Действие излучения и применение изотопов в биологии. М., 1956, стр. 3.
2. Ван-Беккум Д. В сб.: Вопросы радиобиологии. М., 1956, стр. 325.
3. Манойлов С. Е. Календарь заседания Ленинградского общества рентгенологов и радиологов на апрель 1958 г. Л., 1958.
4. Манойлов С. Е. В кн.: Вопросы радиобиологии, т. 3. Л., 1960, стр. 111.
5. Мытарева Л. В. Автореферат канд. дисс. Л., 1959.
6. Фердман Д. Л. и Солин Е. Ф. Практикум по биологической химии. М., 1957.
7. Bontlg S. Z. Arch. Biochem. Biophys., 95, 416, 1961.
8. Van Bekkum D. W. Biochem. Biophys. Acta, 16, 437, 1955.
9. Voss D. O., Campello A. P., Bacila M. Biophys. Res. Commun., 4, 48, 1961.