

ПРИРОДА ТА БІОЕНЕРГЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ ШТУЧНОГО ГІПОБІОЗУ

Дослідження стану штучного гіпобіозу викликає поширений інтерес, що зумовлено перспективами використання моделі вуглекислотного гіпобіозу в медицині, ветеринарії та тваринництві. Однак залишається до кінця незрозумілим механізм біохімічних перетворень, за яких відбувається перехід організмів до гіпометаболічного рівня життєдіяльності. Встановлення цього механізму дасть змогу вирішити ряд проблемних питань, пов'язаних з впровадженням використання методу штучного вуглекислотного гіпобіозу на різних об'єктах дослідження.

Ключові слова: штучний гіпобіоз, гіпометаболічний рівень життєдіяльності.

Исследование состояния искусственного гипобиоза вызывает распространенный интерес, что обусловлено перспективами использования модели углекислотного гипобиоза в медицине, ветеринарии и животноводстве. Однако остается до конца неясным механизм биохимических превращений, который обеспечивают переход организмов на гипометаболический уровень жизнедеятельности. Выяснение этого механизма позволит решить ряд проблемных вопросов, связанных с внедрением использования метода искусственного углекислотного гипобиоза на различных объектах исследования.

Ключевые слова: искусственный гипобиоз, гипометаболический уровень жизнедеятельности.

The research of the artificial hypobiosis generates widespread interest, due to the using perspectives of the carbon dioxide hypobiosis model in the medicine, veterinary and animal husbandry. However, the mechanism of the biochemical transformations which causes the transition of organisms to the hypometabolic rate of vital functions is still unknown totally. The setting of this mechanism will allow solving several problems which are associated with the implementation of the artificial carbon dioxide hypobiosis method on the different objects of the study.

Key words: artificial hypobiosis, hypometabolic rate of vital functions.

Однією із форм існування живих організмів є гіпобіоз – зворотне пригнічення життєдіяльності несприятливими факторами оточуючого середовища. Формування гіпобіотичного стану є адаптивною ознакою, що властива як рослинним так і тваринним організмам, реалізація якої зумовлена функціонуванням клітинних систем [1].

У основі гіпобіотичного стану, лежать фізіологічно адекватні механізми нейрогуморальної перебудови, що дозволяють перевести теплокровні організми на гіпометаболічний рівень життя. За фізіологічною суттю стан штучного гіпобіозу може бути як прямим аналогом, або різновид природної сплячки, так і оригінальними гіпометаболічним станом життєдіяльності [2].

Проведена велика наукова робота по вивченню фундаментальних основ механізму розвитку як природного, так і штучного гіпобіозу на молекулярному та клітинному рівнях. Основу цих робіт склали дослідження з фізіології, нейрохімії, біохімії, морфології і біоенергетики на системному і мембранному та клітинному рівнях [3]. При цьому була проведена не

лише порівняльна морфо-функціональна оцінка і природного та штучного гіпобіозу, але і дано зіставлення цих станів із широко відомими патофізіологічними станами «клінічної гіпотермії». Цими дослідженнями показано, наскільки різні і небезпечні стани «клінічної гіпотермії», розвиток яких заснований не на пріоритетному досягненні основного корисного результату гіпометаболізму, а на пониженні метаболізму за рахунок охолодження, у тому числі і людини.

Для купування тремтіння і судом, у період охолодження пацієнта, в хірургії застосовують наркоз, але він небезпечний. Для зниження цієї небезпеки необхідно додатково застосовувати релаксанти. Проте релаксанти можуть викликати не лише параліч скелетної мускулатури, але і дихання. Виникає необхідність вводити штучне дихання, що у свою чергу, створює нові труднощі і проблеми (ацидоз, алкалоз і так далі). Досягнутий таким чином гіпометаболізм лише трохи підвищує резистентність пацієнта [4].

Сьогодні проблема створення штучного гіпобіозу вирішена гранично простими і абсолютно безпечними способами. Причому це рішення досягається прямо

протилежними для традиційної медицини способами, тобто спочатку отримується кінцевий корисний результат – глибокий гіпометаболізм при нормальній температурі тіла, а гіпотермія якщо вона потрібна, то завжди буде наслідком цього первинного гіпометаболізму.

Саме ці моделі нормотермічного гіпобіозу (зі зниженням метаболізму до 50 %), слугують першоосновою для розвитку всіх інших видів гіпотермічних станів, тобто глибокого і надглибокого гіпобіозу (зі зниженням метаболізму на 90-95 %).

За опанування способу викликати у людей гіпобіоз штучним шляхом, можна отримати потужний арсенал засобів боротьби з важкими патологічними станами і хворобами. Так, доведена можливість радикального позбавлення від таких тяжких захворювань, як сифіліс, тріпаносомна хвороба тощо. Є всі підстави вважати, що в такий спосіб можна буде боротися з сепсисом, оскільки є відомості про успішну боротьбу за допомогою введення в стан гіпобіозу і з вірусними захворюваннями [2].

Повна дезінтеграція організму, за умов гіпобіозу, може сприяти збереженню життя важкохворим, а також постраждалим зі здавленнями тканин. Якщо застосувати гіпобіоз до розвитку токсемії, то тим самим буде виключений головний патологічний чинник травми і запобігання розвитку і поглибленню вторинного некрозу та інфекції. Відома несприйнятність тварин за умов природного гіпобіозу до летальних доз патогенних бактерій та хімічних отрут, а також іонізуючого випромінювання [5].

Одним із визначальних факторів для виконання клітиною специфічних функцій, формування відповідної реакції клітини в підтриманні гомеостазу – є ступінь забезпеченості клітиною АТФ [6].

Енергетичний «пайок» клітини в умовах гіпобіозу не дозволяє їй виконувати призначену функцію. В умовах анаеробного гліколізу, при якому енергії у вигляді АТФ виробляється в 10 разів менше, ніж при аеробному [7], клітина здатна лише існувати, але ніяк не функціонувати. А практично це означає, що:

– «Виключається» імунна система, яка потребує великих енергозатрат. У тварин, за умов природного гіпобіозу, не можна без пробудження викликати запалення, не відторгаються трансплантати, відсутня фагоцитарна активність [8]. Відсутні ознаки запалення в ранах і у травматологічних хворих [9].

– За умов зимівлі не виділяється сеча, припиняється дезінтоксикаційна функція печінки.

– Втрачається термогенез, і тварини починають набувати температури довкілля. Разом з втратою термогенезу втрачається і температурний гомеостаз, що веде за собою цілий ряд змін у ферментативних і гормональних процесах, оскільки ферменти і гормони можуть оптимально функціонувати лише у вузькому температурному інтервалі [10].

– Припиняються і проліферативні процеси, що також вимагають значних енерговитрат. Так, у період сплячки у тварин не ростуть волосся і кігті, припиняються сперматогенез і овуляція. Не відмічено яких-небудь проліферативних процесів у період шоку і у людини [11].

– В умовах енергетичного голоду «вимикається» натрієвий насос, що вимагає для своєї діяльності значної кількості енергії у вигляді АТФ, а це означає, що нервова клітина втрачає здатність відновлювати іонний градієнт на мембрані після імпульсу збудження, втрачається можливість ресинтезу ацетілхоліну – медіатора нервового збудження. Таким чином, нервова клітина втрачає свою здатність як передачі, так і сприйняття нервового імпульсу; настає повна, хоча і оборотна, денервація всього організму.

Перший рівень гіпометаболічної життєдіяльності теплокровного організму пов'язаний з виключенням тканинної біоенергетики, і при нормальній температурі тіла рівень гіпометаболізму не перевищуватиме 50 % від норми [2]. При цьому не виникає яких-небудь істотних порушень функцій ЦНС. Проте утримати температуру тіла теплокровного організму в нормальному для гомойотермних організмів діапазоні не вдається, оскільки всі терморегуляторні механізми засновані на тканинній біоенергетики та зникають одночасно з її виключенням.

Слідуючи законам пойкилотермії, температура тіла починає знижуватися і встановлюється на декілька вищому рівні по відношенню до температури довкілля – це вже класичний механізм розвитку гіпобіозу. Виникаюче зниження температури тіла (наприклад, в умовах кімнатної температури) веде до подальшого гіпометаболізму, рівень якого може досягати 60-70 %, і вже як результат холодового пригнічення біоенергетики ЦТК виникає сонливість і всі ознаки схильності до розвитку глибокого гіпобіозу. З цієї миті вся біоенергетика теплокровного організму перемикається на цикл Кребса і гліколіз, тобто біоенергетика, як і в пойкилотермів, стає температурно-залежною і далі знижуватиметься або підвищуватиметься залежно від зміни температури довкілля.

У зв'язку з цим є важливим визначення динаміки зміни ферментативного статусу організму і можливості його існування при гранично низьких температурах. Враховуючи важливість цього питання, проведені гістохімічні дослідження за оцінкою активності окислювальних ферментів у шурів, що знаходились у стані штучного гіпобіозу різної глибини і тривалості [1].

Вивчалася активність ферментів у різних відділах ЦНС (у руховій області кори головного мозку, нейронах спинномозкових вузлів, мотонейронах), у печінці, нирках та інших органах. Результати досліджень показали, що в нервовій системі, нирках і печінці активність ферментів, пов'язаних з процесом гліколізу, – глюкоза-6-фосфат дегідрогеназа (Г-6-ФДГ), не зазнає значного зниження як у режимі пролонгації гіпобіозу, так і після відновлення життєдіяльності.

Проте активність лактатдегідрогенази (ЛДГ), що окиснює молочну кислоту до пірувату, трохи знижувалася в мотонейронах спинного мозку, печінці і нирках. Активність ферментів, пов'язаних з жировим обміном, також мінялася незначно: зокрема, відмічається зниження активності α -гліцерофосфат дегідрогенази (α -ГФДГ), пов'язаної з НАД, для β -оксибутират дегідрогенази (β -ОБДГ) відзначала деяке зниження активності лише в нирках.

Найбільш чітко пригнічення активності ферментів, пов'язаних з циклом трикарбонових кислот, спостерігалось в печінці, нирках і в меншій мірі – в крупноклітинних ядрах гіпоталамуса, мотонейронах спинного мозку і нейронах спинномозкових вузлів. При цьому найбільше пригнічення активності виявлене для α -кетоглутарат дегідрогенази (α -КГлДГ) у печінці, і особливо, в нирках. Практично у всіх досліджених органах і тканинах спостерігалась тенденція до зниження активності сукцинатдегідрогенази (СДГ).

Виявлена певна особливість: зміна активності ферменту залежить не лише від його приналежності до тієї або іншої групи дегідрогенази, що розрізняється будовою коферменту, але і від його місця в обміні речовин і специфіки тканинної функції. Так, активність СДГ у печінці, нирках і нервових клітинах при глибокому гіпобіозі понижена, тоді як в цих же тканинах активність іншої дегідрогенази флавопротеїнової природи – α -гліцерофосфат дегідрогенази (α -ГФДГ), яка бере участь в активному транспорті електронів через мембрану мітохондрій, зростає. Активність, яка пов'язана з НАД α -кетоглутаратдегідрогеназою (α -КГлДГ) в печінці, нирках і мотонейронах спинного мозку при глибокому гіпобіозі чітко гальмується, в той же час активність β -ОБДГ не змінюється в печінці і нервових клітинах, але знижується в нирках.

У цілому ж спрямованість цієї перебудови зводилася до зниження активності окиснювальних ферментів, що здійснюють ступінчасте перетворення субстратів у процесі гліколізу і в циклі Кребса (ЛДГ, ПДГ, α -КГлДГ, МДГ і СДГ). Ферменти ж, пов'язані з ліпідним обміном (α -ГФДГ, НАД, β -ОБДГ) у різних відділах ЦНС, печінці і нирках знижуються в значно меншій мірі. Висока «стійкість» глутаматдегідрогенази (ГЛДГ) в умовах тривалої підтримки гіпобіозу, можливо, пов'язана з тим, що цей фермент виконує важливу функцію зв'язування аміаку (NH_4^+). Зв'язування аміаку кетокислотою (в даному випадку – α -кетоглутаровою) служить однією з реакцій, за допомогою якої печінка здійснює функцію детоксикації. Можна передбачити, що зв'язування аміаку в процесі синтезу глутамата є в умовах гіпобіозу життєво важливим для організму процесом, який визначається високою активністю ГЛДГ [3].

Існують різні моделі створення стану штучного гіпобіозу для пойкилотермних тварин, у тому числі модель створення вуглекислотного гіпобіозу [12]. Ключовим фактором, за якого відбувається перехід

тварин у гіпометаболічний стан, поряд з гіперкапнією та гіпоксією, є гіпотермія. Механізм захисту від різкого зниження температури тіла під впливом холоду полягає в зміні енергетичних процесів.

Мітохондрії – основний постачальник енергії у формі АТФ за процесів спряження окиснення та фосфорилування в еукаріотичних клітинах, але за певних умов мітохондрії можуть виконувати роль теплогенераторів в клітинах організму [13;14]. Мітохондрії чутливі до будь-якого впливу, особливо до кисневої недостатності. Первинною їх реакцією є пригнічення окисного фосфорилування [13], яке дозволяє аеробним організмам уловлювати значну частку енергії окиснення субстратів.

Функціональну активність мітохондрій перш за все забезпечує внутрішня мембрана мітохондрій, яка містить компоненти електрон-транспортного (дихального) ланцюга й зворотну H^+ -АТФ-азу, що необхідні для перетворення енергії переносу електронів у синтез АТФ з АДФ та неорганічного фосфору (P_i) [15].

Висновки

Досліджено функціональну активність мітохондрій гепатоцитів та кардіоміоцитів щурів за умов штучно створеного вуглекислотного гіпобіозу. Встановлено пригнічення їх окисної та фосфорилуючої активності, водночас не виявлено порушення АТФ-гідролазної активності. Характер змін показників інтенсивності дихання та фосфорилування мітохондрій гепатоцитів при використанні двох субстратів окиснення (малату та сукцинату), а також результати з визначення активності ферментів дихального ланцюга свідчать про наявність порушень функціональної активності останнього комплексу дихального ланцюга [16]. Для мітохондрій кардіоміоцитів показано зниження швидкості поглинання кисню за умов гіпобіозу. Встановлене часткове роз'єднання процесів спряження окиснення і фосфорилування за використання малату, на відміну від сукцинату. Ці дані, а також результати з визначення активності ферментів дихального ланцюга дозволяють припустити переключення мітохондрій кардіоміоцитів на сукцинатний тип тканинного дихання, який можливо реалізується за умов дослідження [17].

Таким чином, як результати біохімічних досліджень, так і дані гістохімічних досліджень свідчать про те, що активність окислювальних ферментів у процесі розвитку гіпобіозу не зазнає істотних порушень. Після відновлення життєдіяльності активність переважного числа ферментів протягом доби повністю нормалізується.

ЛІТЕРАТУРА

1. Тимофеев Н. Н. Гипобиоз и криобиоз. Прошлое, настоящее, будущее. – М. : Информ-Знание, 2005. 256 с.
2. Калабухов Н. И. Спячка млекопитающих. – М., Наука, 1985. – 168 с.
3. Тимофеев Н. П. Искусственный гипобиоз. – М., 1983. – 234 с.
4. Петракович Г. Н. Естественный и искусственный гипобиоз у человека. – «Русская Мысль», 1993. – № 1–2. – С. 127–146.
5. Голдовский А. М. Основы учения о состояниях организма. – Л., Наука, 1977. – 134 с.
6. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. – М. : Наука, 1989. – 564 с.
7. Скулачев В. П., Козлов И. А. Протонные аденозинтрифосфаты. Молекулярные биологические генераторы тока. – М.: Наука. 1977 137 с.
8. Лозина-Лизинский Л. К. Очерки по криобиологии. – Л., Наука, 1972 234 с.
9. Вейль М. Г., Шубин Г. Диагностика и лечение шока. Перев. с англ. – М., 1971. – 234 с.
10. Николаев В. С. и др. Патолог, физиолог. – 1981. – № 6. – С. 36.
11. Калугин В. К. Патологическая физиология травмы и шока. – Л., 1978. – 124 с.

12. Мельничук С. Д., Мельничук Д. О. Гіпобіоз тварин (молекулярні механізми та практичне значення для сільського господарства і медицини) : [монографія]. – К. : Видавничий центр НАУ, 2007. – 220 с.
13. Ленинджер А. Основы биохимии: В 3-х т. Т. 2. Пер. с англ. – М. : Мир, 1985. – 368 с.
14. Скулачев В. П. Альтернативные функции клеточного дыхания // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 8. – С. 2–7.
15. Биоэнергетика клетки. Химия патологических процессов: учебное пособие / Д. И. Кузьменко, Т. В. Жаворонок, И. П. Мамонтова, В. В. Андрушкевич, А. М. Тырышкин / под ред. В. Ю. Сереброва и Г. А. Сухановой. – Томск : Сибирский государственный медицинский университет, 2008. – 180 с.
16. Мельничук С. Д., Морозова В. С., Хижняк С. В., Войцицкий В. М. Показники дихання і фосфорилування мітохондрій гепатоцитів щурів за умов штучного гіпобіозу // Біологія тварин. – 2012. – Т. 14, № 1-2. – С. 155–161.
17. Мельничук С. Д., Хижняк С. В., Морозова В. С., Бабич Л. В., Войцицкий В. М. Особливості функціонування мітохондрій гепатоцитів і кардіоміоцитів щурів за штучного гіпобіозу // Збірник наукових праць 11-ї Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні інформаційні технології управління екологічною безпекою, природокористуванням, заходи в надзвичайних ситуаціях» (16–21 вересня 2012р., смт. Кацівелі, АРК). – Вид-во «АДЕФ-Україна». – 2012. – С.327–340.

Рецензенти: **Кутлахмедов Ю. О.**, д.б.н., професор Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України (м. Київ);
Петрук В. Г., д.х.н., професор Вінницького національного технічного університету (м. Вінниця).

© Мельничук С. Д., Морозова В. С.,
Хижняк С. В., Войцицкий В. М., 2013

Дата надходження статті до редколегії 22.05.2013 р.

МЕЛЬНИЧУК Сергей Дмитриевич – д.б.н., проф., член-корреспондент УААН, директор Украинского учебно-научного института качества биоресурсов и безопасности жизни Национального университета биоресурсов и природопользования Украины.

Коло наукових інтересів: биохимия животных, безопасность продукции агропромышленного комплекса.

МОРОЗОВА Валерия Сергеевна – аспирантка кафедры биохимии животных, качества и безопасности сельскохозяйственной продукции имени акад. М. Ф. Гулого Национального университета биоресурсов и природопользования Украины.

Коло наукових інтересів: биохимия животных, безопасность продукции агропромышленного комплекса.

ХИЖНЯК Светлана Владимировна – д.б.н., ведущий научный сотрудник Украинского учебно-научного института качества биоресурсов и безопасности жизни Национального университета биоресурсов и природопользования Украины.

Коло наукових інтересів: биохимия животных, безопасность продукции агропромышленного комплекса.

ВОЙЦИЦКИЙ Владимир Михайлович – д.б.н., проф., ведущий научный сотрудник Украинской лаборатории качества и безопасности продукции агропромышленного комплекса Национального университета биоресурсов и природопользования Украины.

Коло наукових інтересів: биохимия животных, безопасность продукции агропромышленного комплекса.