

УДК 612.33:616 – 092.9

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА
ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ИНТАКТНЫХ КРЫС

Н. С. Мышковаец, А. И. Грицук

Гомельский государственный медицинский университет

Цель: изучить показатели тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования колец слизистой двенадцатиперстной кишки интактных белых крыс.

Материалы и методы. В работе были использованы белые крысы-самцы массой 180–230 г. Изучение параметров тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования проводили полярографическим методом на устройстве «Record 4».

Результаты. Дана характеристика основных параметров тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования слизистой тонкого кишечника интактных белых крыс. Показана высокая дыхательная активность на эндогенных и экзогенных субстратах, обусловленная выполнением тонким кишечником множества энергозависимых метаболических функций.

Заключение. Большой вклад в энергетику тонкого кишечника вносят насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты. Интенсивность тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования слизистой тонкого кишечника соответствует другим аэробным тканям.

Ключевые слова: митохондриальное окисление, слизистая кишечника, окислительное фосфорилирование, белые крысы.

THE CHARACTERISTIC OF ENERGY METABOLISM
OF THE SMALL INTESTINE OF INTACT RATS

N. S. Myshkavets, A. I. Gritsuk

Gomel State Medical University

Objective: to study the indicators of tissue respiration and oxidative phosphorylation of the rings of the mucous membrane of the duodenum intact in white rats.

Material and methods. We used white male rats with body mass of 180–230 g. The parameters of tissue respiration and oxidative phosphorylation were studied by the polarographic method on the device «Record 4».

Results. The work gives the characteristic of the key parameters of tissue respiration and oxidative phosphorylation of the mucous membrane of the small intestine of intact white rats. It shows high respiratory activity both on endogenous, and exogenous substrates, which is caused by the fact that the small intestine perform a great number of energy-dependent metabolic functions.

Conclusion. Saturated and unsaturated fatty acids make a great contribution to the energy properties of the small intestine. The intensity of tissue respiration and oxidative phosphorylation of the mucous membrane of the small intestine is consistent with other aerobic tissues.

Key words: mitochondrial oxidation, mucous membrane of the small intestine, oxidative phosphorylation, white rats.

Введение

Тонкий кишечник является основным органом ассимиляции пищи, осуществляющим при участии высокоорганизованных ферментных систем гидролиз всасывание нутриентов и эндогенных метаболитов [1]. Энергозависимость этих процессов, а также интенсивное кровоснабжение и оксигенация тонкого кишечника косвенно свидетельствуют об активном митохондриальном дыхании.

В первых работах, посвященных изучению тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования (ТД и ОФ), выполненных на изолированных митохондриях слизистой кишечника методом полярографии 70-80-х гг. прошлого века и [2–5] или интактных энтероцитах [6, 7], было показано, что по уровню сопряжения ТД и ОФ, активности ферментов цикла

Кребса, дыхательной цепи (ДЦ) и прочим параметрам митохондриальное дыхание слизистой оболочки тонкого кишечника близко к таковым других аэробных тканей. Также проведены исследования и описаны особенности функционирования митохондрий в разных отделах тонкого кишечника и влияние различных факторов на эффективность процессов энергообразования [8].

Необходимо подчеркнуть, что процесс фракционирования митохондрий сопряжен со значительным повреждением этих органелл и осуществляется не в физиологических условиях. Как правило, в процессе эксперимента практически невозможно воспроизвести условия внутриклеточной среды, состав и концентрацию субстратов, учесть воздействие регуляторных факторов, транспортных потоков и другие закономерности клеточного метаболизма. Соответст-

венно, изучение дыхательных параметров изолированных митохондрий существенно ограничивает возможность аппроксимации полученных результатов к условиям *in vivo* целого органа и организма [9]. Более того, известно, что митохондрии, выделенные из слизистой тонкого кишечника крыс, характеризуются биохимической гетерогенностью, предполагающей их разделение на «легкие», «средние» и «тяжелые» фракции, которые отличаются по скорости поглощения кислорода, активности дыхательных ферментов и другим важным параметрам. В процессе выделения изолированных митохондрий невозможно получить «митохондриальный набор», который отражал бы условия *in vivo*, поскольку в интактной клетке происходит совместная работа с неизвестным уровнем сопряжения указанных митохондриальных фракций [5].

Слизистая тонкого кишечника является гетерогенной тканью, состоящей из динамично изменяющихся клеток, находящихся на разных стадиях пролиферации, дифференцировки, старения и отмирания, при этом каждая клеточная субпопуляция существенно отличается по ряду биохимических параметров, в том числе митохондриальному окислению.

Все вышеизложенные факты показывают, что более объективным и информативным является изучение тканевых фрагментов интактной слизистой тонкого кишечника. Метод позволяет оценить не только скорость дыхания и активность полиферментных комплексов ДЦ митохондрий, но также состояние систем, контролирующих поступление и утилизацию метаболитов, проницаемость, целостность и сократительную способность митохондриальных мембран и другие параметры [9].

Анализ доступных литературных источников свидетельствует об отсутствии работ, посвященных изучению основных параметров митохондриального окисления фрагментов слизистой тонкого кишечника интактных животных.

Цель исследования

Изучить показатели тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования колец слизистой двенадцатиперстной кишки интактных белых крыс.

Материалы и методы

В работе использовались белые крысы-самцы массой 180–230 г, всего 60 животных. При проведении эксперимента были соблюдены требования Хельсинской Декларации по гуманному обращению с животными (1975, пересмотрено в 1993), Директивы Совета Европейского Сообщества по защите животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (1986) и других нормативных актов, принятых в международной практике лабораторного животноводства.

Животные содержались на стандартном рационе вивария. После декапитации часть тон-

кого кишечника изолировали, промывали в охлажденном физиологическом растворе, выворачивали «наизнанку», освобождали от соединительных элементов и пищевых частиц. Обработанные таким образом фрагменты кишечника нарезали в виде колец размером 1–1,5 мм, которые помещали в раствор Хэнкса. Изучение параметров ТД и ОФ проводили полярографическим методом на устройстве «Record 4» (ИТЭБ РАН, Пущино) в ячейке объемом 2 мл в растворе Хэнкса, закрытым платиновым электродом Кларка при температуре +25 °С.

Состояние энергетического обмена кольцевых срезов кишечника оценивали путем определения скорости потребления кислорода на эндогенных субстратах ($V_{\text{энд}}$), в присутствии экзогенных сукцината ($V_{\text{як}}$) и глутамата ($V_{\text{глу}}$), а также применяя разобшитель окислительного фосфорилирования 2,4-динитрофенол ($V_{\text{днф}}$) [10]. Для более полной характеристики состояния энергетического обмена тонкого кишечника рассчитывали ряд относительных величин: коэффициенты стимулирующего действия (СД) для каждого субстрата и разобшителя соответственно: $\text{СД}_{\text{як}} = V_{\text{як}}/V_{\text{энд}}$; $\text{СД}_{\text{глу}} = V_{\text{глу}}/V_{\text{энд}}$; $\text{СД}_{\text{днф}} = V_{\text{днф}}/V_{\text{энд}}$.

Оценку соотношения основных субстратов митохондриального окисления проводили методом ингибиторного анализа, используя амитал — ингибитор 1 комплекса ДЦ и малонат — конкурентный ингибитор сукцинатдегидрогеназы (СДГ). На основании полученных данных рассчитывали показатели амиталрезистентного дыхания (АРД) и малонатрезистентного дыхания (МРД): $\text{АРД} = V_{\text{ам}}/V_{\text{энд}}$; $\text{МРД} = V_{\text{мал}}/V_{\text{ам}}$ [11, 12].

Скорость поглощения кислорода тканью выражали в нмоль кислорода за 1 минуту на мг белка. Концентрацию белка в предварительно гомогенизированных препаратах тонкого кишечника определяли биуретовым методом.

Полученные экспериментальные данные обрабатывали статистически, используя приложение «Microsoft Excel», и представляли в таблицах в виде $X \pm Sx$ (среднее \pm ошибка среднего).

Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований подтверждают предположение о высокой дыхательной активности энтероцитов интактных животных, что соответствует современным представлениям о кишечнике как органе с интенсивным кровоснабжением, оксигенацией и аэробным обменом [13]. Значительная скорость митохондриального окисления слизистой интактного кишечника наблюдается не только на эндогенных субстратах ($V_{\text{энд}}$), но и при введении в инкубационную среду экзогенного сукцината ($V_{\text{як}}$) и глутамата ($V_{\text{глу}}$) (таблица 1). Данный феномен может быть обусловлен содержанием большого числа митохондрий в различных клеточных структурах стенки тонкого кишечника (энтеро-

циты, клетки гладкой мускулатуры и др.) [14]. Также известно, что слизистая тонкого кишечника относится к интенсивно пролиферирующим тканям и, соответственно, требует огромных энергетических затрат для осуществления всех этапов обновления. Соответственно, интенсивное эндогенное дыхание, адекватная реакция на добавку экзогенных субстратов (таблица 1) свидетельствуют об этом, а также ха-

рактеризуют высокую степень интактности исследуемого препарата, поскольку считается, что образцы с малыми механическими повреждениями обладают всеми перечисленными признаками. Даже при низком уровне НАД- и ФАД-зависимых субстратов биологического окисления дыхательная активность поддерживается благодаря интенсивной утилизации эндогенных жирных кислот и кетонных тел [15].

Таблица 1 — Показатели ТД интактного кишечника на эндогенных и экзогенных субстратах ($X \pm S_x$)

Показатели	$V_{\text{энд}}$	$V_{\text{як}}$	$СД_{\text{як}}$	$V_{\text{глу}}$	$СД_{\text{глу}}$
Интактные крысы	$9,14 \pm 1,81$	$12,4 \pm 2,67$	$1,37 \pm 0,19$	$11,41 \pm 2,33$	$1,20 \pm 0,13$

После внесения в инкубационную среду разобщителя окислительного фосфорилирования 2,4-динитрофенола ($V_{\text{диф}}$) наблюдается увеличение скорости тканевого дыхания (таблица 2). Эффект усиления дыхательной активности связан с тем, что разобщитель повышает проницаемость мембраны для протонов. При этом транспорт электронов по дыхательной цепи на кислород ускоряется, но образования АТФ митохондриальной АТФ-

азой не происходит из-за снижения протондвижущей силы, которая в норме обуславливает перенос протонов через внутреннюю мембрану митохондрий [9]. Наличие эффекта разобщения при внесении в систему 2,4-динитрофенола также подтверждает высокую степень интактности препарата и адекватную работу всех комплексов дыхательной цепи исследуемых колец слизистой двенадцатиперстной кишки белых крыс.

Таблица 2 — Показатели степени сопряжения ТД и ОФ кишечника интактных животных ($X \pm S_x$)

Показатели	$V_{\text{энд}}$	$V_{\text{диф}}$	$СД_{\text{диф}}$
Интактные крысы	$9,14 \pm 1,81$	$11,88 \pm 3,85$	$1,20 \pm 0,12$

Данные ингибиторного анализа (таблица 3) позволяют количественно оценить функциональность и соотношение соответствующих

субстратов пиридинзависимого и флавопротеидзависимого участков (комплексов 1 и 2) ДЦ митохондрий.

Таблица 3 — Коэффициенты ингибиторного анализа ($X \pm S_x$)

Показатели	АРД	МРД
Интактные крысы	$0,88 \pm 0,09$	$0,76 \pm 0,09$

Полученные данные свидетельствуют о важной роли глутамата и, возможно, других НАД-зависимых субстратами в обеспечении энергией клеток слизистой кишечника. Интенсивно используются экзогенный сукцинат, а также ненасыщенные и насыщенные жирные кислоты. Вклад НАД-зависимых субстратами в энергетику тонкого кишечника соответствует таковому для других аэробных тканей. Уровень малонапряженного дыхания указывает на значительный вклад жирных кислот как энергетических субстратов, превышающий таковой для миокарда [11] и других кислородзависимых тканей. Именно высокое содержание в энтероцитах жирных кислот, выступающих мощными дезинтеграторами мембранных структур, негативно влияет на процесс фракционирования клетки и выделения изолированных митохондрий [5].

Заключение

Для более полной характеристики основных энергетических параметров слизистой тонкого кишечника предпочтительно использовать минимально поврежденные тканевые фрагменты в виде кольцевых срезов, что значительно облегчает аппроксимацию полученных результатов к условиям *in vivo*. Данный подход позволил установить, что существенный вклад в энергетику вносят насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты, а интенсивность тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования слизистой тонкого кишечника соответствует таковой в других аэробных тканях.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Современные представления о всасывании моносахаридов, аминокислот и пептидов в тонкой кишке млекопитающих / Н. М. Тимофеева [и др.] // Успехи физиологических наук. — 2000. — Т. 31, № 4. — С. 24–37.

2. Symons, L. E. Respiratory activity of rat intestinal mitochondria / L. E. Symons // Nature. — 1966. — № 23. — P. 422–423.
3. Bronk, J. R. The polarographic determination of the respiration of the small intestine of the rat / J. R. Bronk, D. S. Parsons // Biochim Biophys Acta. — 1965. — Oct. 13. — P. 397–404.
4. Ахмеров, Р. Н. Выделение интактных митохондрий из слизистой кишечника / Р. Н. Ахмеров // Узбекский биологический журнал. — 1978. — № 4. — С. 38–41.
5. Адрианов, Н. В. Биохимическая гетерогенность митохондрий слизистой оболочки тонкого кишечника крыс / Н. В. Адрианов, В. Б. Спиричев, Н. Г. Шуппе // Вопросы медицинской химии. — 1977. — Т. 23, № 3. — С. 398–403.
6. Bronk, J. R. The relationship between mitochondrial structural changes and respiration rate in intact mucosal cells / J. R. Bronk, D. K. Jasper // Biochem J. — 1970. — № 116(4). — P. 33.
7. Bronk, J. R. Variations in mitochondrial structure as a function of the respiration rate of rat intestinal mucosa / J. R. Bronk, D. K. Jasper // J Physiol. — 1968. — № 197(1). — P. 14–16.
8. О функциональном состоянии митохондрий слизистой оболочки тонкой кишки при тепловых стрессах / Х. Н. Мусаев [и др.] // Физиологический журнал СССР. — 1983. — Т. 69, № 1. — С. 135–139.
9. Современные проблемы биохимии. Методы исследования: учеб. пособие / Е. В. Барковский [и др.]; под ред. проф. А. А. Чиркина. — Минск: Выш. шк., 2013. — 491 с.
10. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом / Г. М. Франк [и др.]; под общ. ред. Г. М. Франка. — М.: Наука, 1973. — 196 с.
11. Влияние инкорпорированных радионуклидов цезия на ультраструктуру и процессы тканевого дыхания митохондрий кардиомиоцитов / А. И. Гризук [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед.-биол. наук. — 2002. — № 2. — С. 63–70.
12. Николс, Д. Дж. Биознергетика. Введение в хемоосмотическую теорию / Д. Дж. Николс. — М.: Мир, 2002. — 190 с.
13. Biologi of Disease / N. Ahmed [et al.] — Garland Science, 2006. — 600 p.
14. Small Bowel Review Normal Physiology Part 2 / A. B. R. Thomson [et al.] // Digestive Diseases and Sciences. — 2001. — Vol. 46, № 12. — P. 2588–2607.
15. Мохова, Е. Н. Дыхание митохондрий в тканевых препаратах / Е. Н. Мохова // Регуляция энергетического обмена и физиологическое состояние организма: сб. науч. ст. / Академия наук СССР, Институт биологической физики; под ред. д.б.н. М. Н. Кондрашовой. — М.: Наука, 1978. — С. 67–72.

Поступила 20.03.2015

УДК 612.73/74:612.013.7:796.8

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА МНОГОФАКТОРНЫХ ЭКСПРЕСС-ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ У ГРЕБЦОВ НА БАЙДАРКАХ И КАНОЭ В ПОДГОТОВИТЕЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Н. И. Штаненко¹, Л. А. Будько¹, П. А. Севостьянов²

¹Гомельский государственный медицинский университет

²Гомельский областной диспансер спортивной медицины

Цель: Провести анализ возрастной динамики показателей энергетического обеспечения и функционального состояния при мышечной деятельности у гребцов на байдарках и каноэ в подготовительном периоде.

Материалы и методы. Обследованы 32 спортсмена мужского пола, которые были разделены на 3 возрастные группы (13–15 лет, 16–18 лет и 19–21 год). Функциональное состояние и основные параметры системы энергообеспечения мышечной деятельности спортсменов оценивали по данным ПАК «Омега-С» и с помощью АПК «D-тест» до и после тренировки.

Результаты. Исходя из полученных данных, можно предположить, что возрастные особенности показателей аэробной мощности тесно взаимосвязаны с суммарным эффектом вегетативной регуляции (TP), активностью парасимпатки (HF) и особенно симпатического звена, что проявляется при физической нагрузке (VLF, LF).

Заклучение. Установлена степень взаимосвязи функциональных и энергетических показателей ПАК «Омега-С» с параметрами многофакторной экспресс-диагностики С.А. Душанина с применением АПК «D-тест». Данная методика дает возможность прогнозирования реакции организма на физическую нагрузку.

Ключевые слова: гребля на байдарках и каноэ, вариабельность сердечного ритма, аэробные и анаэробные механизмы мышечной деятельности.

THE AGE DYNAMICS OF MULTIFACTOR EXPRESS INDICATORS OF THE FUNCTIONAL STATE OF KAYAK AND CANOE ROWERS DURING TRAINING

N. I. Shtanenko¹, L. A. Budko¹, P. A. Sevostianov²

¹Gomel State Medical University

²Gomel Regional Clinic of Sport Medicine

Objective: to analyze the age dynamics of parameters of energy supply and functional state in kayak and canoe rowers during training.

Material and methods: We examined 32 male sportsmen who were divided into 3 age groups (13–15, 16–18 and 19–21 years old). The functional state and the basic parameters of energy supply system of muscular activity of the sportsmen were evaluated by data of the computer program complexes «Omega-C» and «D-test» before and after training.

Results: The data obtained make it possible to make a supposition that the age features of the parameters of aerobic capacity are closely interconnected with the resultant effect of vegetative regulation (TP waves), parasympathetic activity (HF waves) and especially sympathetic link, which is revealed in physical exercise (VLF, LF waves).

Conclusion: the study revealed the degree of interconnection of functional and energetic parameters of the computer program complex «Omega-C» with the parameters of multifactor express-diagnostics by S. A. Dushanin with the use of the computer program complex «D-test». This method makes it possible to prognose organism reactions to physical exercise.

Key words: kayak and canoe rowing, heart rate variability, aerobic and anaerobic of muscular activity.