

Э. Г. Быков, М. С. Евтеева

## ДИСКООПЕРАЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА В ОЦЕНКЕ МЕХАНИЗМОВ ПОВРЕЖДЕНИЯ, КОМПЕНСАЦИИ И АДАПТАЦИИ

*ЦНИЛ, кафедра гистологии и эмбриологии ВГМА им. Н.Н. Бурденко*

В серии гистохимических исследований показано наличие у совокупностей клеточных элементов, реализующих специфическую функцию органов особого вида соотношения активности дегидрогеназ, маркеров отдельных видов метаболизма и органоидов клетки. Иллюстрирующая такие соотношения диаграмма называется «метаболическим профилем». Познавательная сущность основывается на представлении о «маркерной» дегидрогеназе для каждого метаболического пути, а также на том, что каждая дегидрогеназа связана с органоидами, на мембранах которых распределяется ее ферментативный ансамбль.

Техническая сторона связана с гистоэнзимологическими исследованиями, особенностью которых является принцип стандартизации на этапах идентификации активности с соблюдением принципов профилактики потери и дислокации ферментативного белка и получения монокроматического объекта для микроденситометрического анализа. Методическое оснащение таких полиэнзимологических исследований связано с криостатной техникой, соблюдением правил забора материала и замораживания блоков ткани для витрификации внутриклеточной воды, а также с использованием стандартизованных гель-сред на основе поливинилового спирта. Ориентированные для идентификации различных дегидрогеназ среды содержат нитро-СТ, цианид калия, ионы активаторы, буфер с необходимым значением pH, субстрат и гель. Полувосстановленные фрагменты молекул диформаза и их обломки элиминируются обработкой в ацетоне.

Количественные характеристики получают на системе «Микротелс-4» методом телевизионной компьютеризированной микроденситометрии, позволяющей в режиме реального времени получить значения экстинций при исследовании выбранных участков изображения гистохимического микропрепарата. Система обеспечивает получение статистических таблиц, включающих первичные статистики, значение коэффициента вариации Пирсона и статистической модели.

Для построения диаграммы «метаболического профиля» используются дегидрогеназы-«маркеры»:

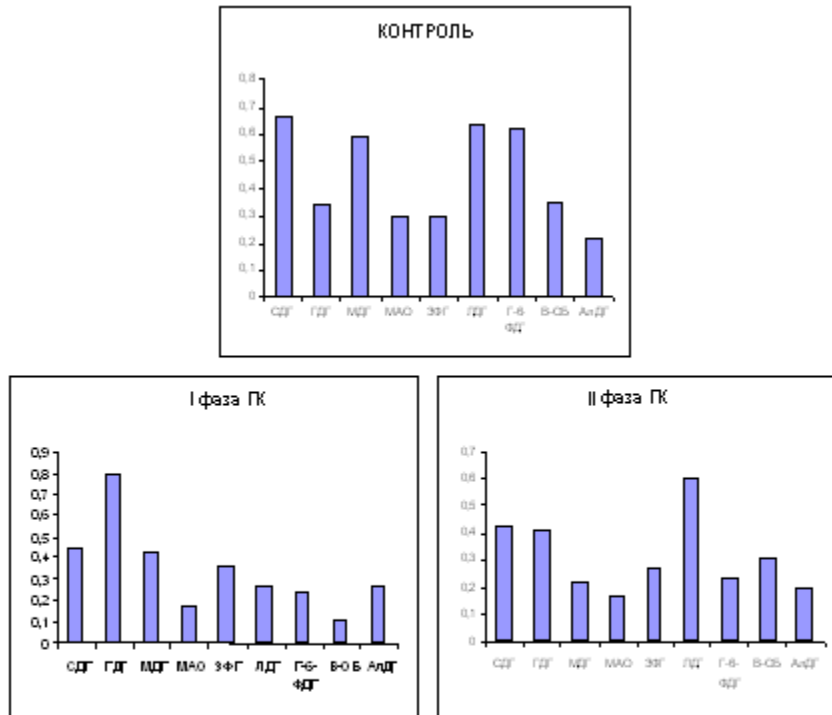
- сукцинатдегидрогеназа – процессы внутриклеточного дыхания, внутренняя мембрана митохондрий;
- глутаматдегидрогеназа – обмен внутриклеточного аммиака, матрикс митохондрий;
- малатдегидрогеназа – окисление промежуточных продуктов цикла Кребса, матрикс митохондрий;
- цитратдегидрогеназа – цикл лимонной кислоты, наружная мембрана митохондрий;

- 3-фосфоглицероальдегиддегидрогеназа – начало пути превращений в цепи гликолиза, гладкий эндоплазматический ретикулум, митохондрии;
- лактатдегидрогеназа – конец цепи гликолиза, эндоплазматический ретикулум, митохондрии;
- глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа – «маркер» «пентозофосфатного пути» превращения глюкозы, эндоплазматический ретикулум, митохондрии;
- алкогольдегидрогеназа – маркер начала превращений этанола в организме, эндоплазматический ретикулум;
- ацетальдегиддегидрогеназа – конец превращений этанола в организме, эндоплазматический ретикулум.

По-существу дела диаграмма соотношений активности дегидрогеназ отражает «кооперацию» метаболических путей, в рамках существующих на сегодняшний день представлений о внутриклеточной локализации ансамблей ферментативных белков. Интуитивно можно согласиться с тем, что такая «кооперация» может неким образом отражать различные уровни функции, а также изменяться в условиях патологии. В самом деле уже первые попытки такого анализа в различных ситуациях ? изменения трофического режима, регенераторный процесс, воздействие повреждающих физических и химических факторов внешней среды, лекарственных препаратов, хирургическая патология ? показали возможность получения новой информации. В возможности слежения за быстро происходящими изменениями в тканях на основе такого подхода убедили результаты исследования активности дегидрогеназ в условиях летальной невозмещенной кровопотери.

В экспериментах производилась невозмещенная летальная кровопотеря в объеме 2,8% от массы тела, сопровождающаяся агонией и летальным исходом на 40-45 минуте. Анализ диаграммы «метаболического профиля» коркового и мозгового вещества надпочечных желез показал наличие изменений профиля, что расценивается как дискооперация метаболизма в условиях высокой функциональной напряженности в первые 15 минут и истощения функции надпочечной железы в агональном периоде. Необходимо учесть к тому же, что изменения уровня ее функции сопровождаются деструктивными изменениями железистого эпителия. Соответствующие диаграммы «метаболических профилей» представлены на рис.1.

Органоспецифический профиль коркового вещества надпочечной железы, при расчете величин активности дегидрогеназ на все слои представляет диаграмму, на которой наибольшие значения экстинций соответствуют сукцинатдегидрогеназе, малатдегидрогеназе, лактатдегидрогеназе и конкурентной с ней глюкозо-6-фосфатдегидрогеназе.



*Рис. 1 «Метаболический профиль» железистого эпителия коры надпочечных желез белых крыс в условиях летальной невозмещенной кровопотери – биологический контроль, первая фаза агонального периода, вторая фаза агонального периода. Обозначения: по оси абсцисс – наименования дегидрогеназ, по оси ординат – величины активности в экстинциях. Технология «Микротелс Р4».*

Примечательно, что в ряду митохондриально связанных дегидрогеназ низким уровнем активности отличается глутаматдегидрогеназа и «маркер» начала гликолиза 3-фосфоглицероальде-гиддегидрогеназа. В структуру этого «метаболического профиля» включена активность моноаминоксидазы из-за соображений расширения характеристики процесса.

Судя по полученным результатам, кровопотеря, будучи мощным стрессовым фактором, сопровождается изменениями в соотношениях активности митохондриально связанных дегидрогеназ с стимуляцией глутаматдегидрогеназы, а также потерей физиологического соотношения активности «маркеров» начала / конца гликолиза уже на 15 мин. после начала кровопотери. Агональный период, связанный с формированием альтеративных изменений железы отличается иными формами соотношений активности дегидрогеназ в этих группах «маркеров».

Для понимания ряда сложных в познавательном отношении ситуаций имеет значение поиск разграничительных критериев, опираясь на которые можно строить новую диагностическую тактику. Обычно сложные клинические ситуации, часто связанные с современными повреждающими химическими и физическими факторами, при использовании существующего уровня диагностической лабораторной техники либо не могут быть внятно объяснены, либо их конкретизация затруднена. Пользуясь преимуществами гистоэнзимологического анализа, который позволяет обсуждать проблемы где-то впереди клинической морфологии, ближе к представлениям витального характера, что не может позволить себе ни патологоанатом, ни клинический

биохимик можно получить картины, отвечающие запросу клинициста о существе проблемы.

В серии исследований совместно с Н. Н. Шкилем на материале пункционных биопсий печени получены результаты, которые позволяют однозначно идентифицировать ряд клинических состояний в ситуации неопределенности, судя по данным клинического, клинико-лабораторного и клинико-биохимического исследования. Трудные в познавательном отношении ситуации складываются там, где имеется сочетанная патология внутренних органов, либо структурные и метаболические эффекты повреждающего фактора не представляются ясными в той мере, как этого требует диагностическая практика. Неопределенность такого вида обычно влечет за собой не только патогенетически неоправданную лечебную тактику, но может привести к определенной дезориентации по отношению к целым группам больных.

В частности, такими контингентами являются больные сочетанной патологией печени, а также алкоголики и наркоманы, потребляющие героин, кокаин, опиаты кустарного приготовления, эфедрон и др. Исследования особенностей структуры «метаболических профилей» в такой ситуации позволяет считать их достаточно эффективным инструментом в распознавании принадлежности больного к определенной группе.

«Метаболический профиль» паренхимы печени клинически здоровых лиц имеет специфические особенности, связанные с малыми различиями активности митохондриально связанных дегидрогеназ, с учетом незначительного превышения малатдегидрогеназы, высокого уровня 3-фосфоглицеролальде-гидрогеназы, лактатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (см. рис. 2). Печеночная паренхима больных хроническим алкоголизмом отличается специфическими соотношениями сукцинатдегидрогеназы, глутаматдегидрогеназы и малатдегидрогеназы с активацией последней. В печени больных алкоголиков интенсифицирован гликолиз с выраженным преобладанием активности лактатдегидрогеназы. Одновременно определяется стимуляция «пентозо-фосфатного цикла», бэта-оксибутиратдегидрогеназы. Тактика полиэнзимологического анализа позволила идентифицировать в клинически трудных ситуациях ведущие патогенетические факторы, такие, например, какими являются наркотики различного вида.

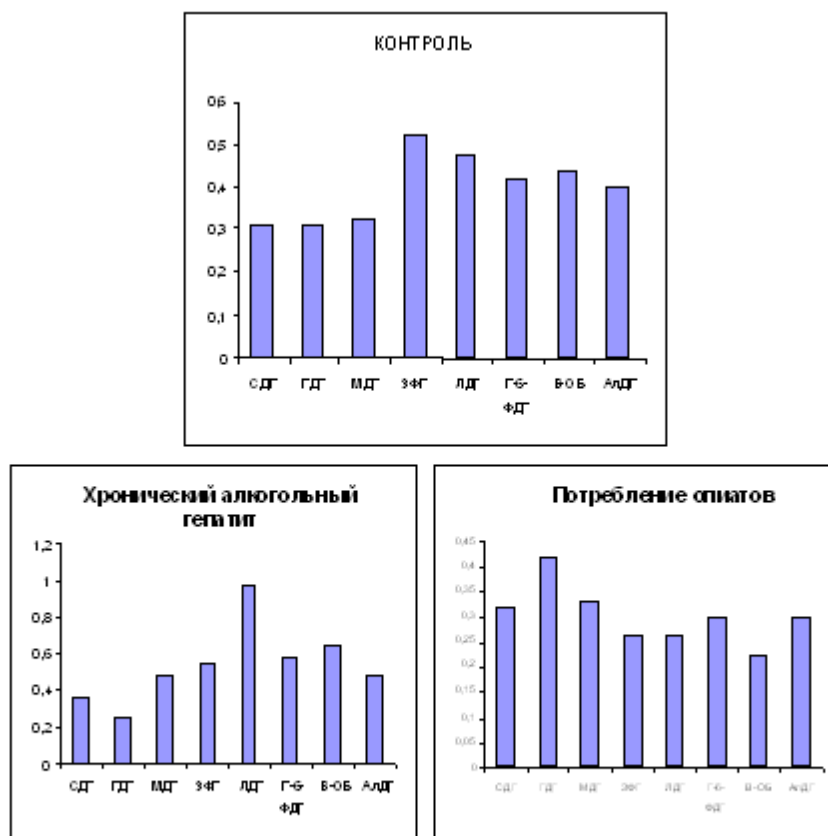


Рис. 2. Диаграммы «метаболического профиля» паренхимы печени здоровых лиц, больных алкоголизмом и опиатных наркоманов. Обозначения: по оси абсцисс – наименования дегидрогеназ, по оси ординат – активность дегидрогеназ в экстинциях. Система «Микротелс?4».

В частности проведенные сопоставления диаграмм «метаболического профиля» паренхимы печени лиц, потребляющих опиаты с картиной клинического стандарта, показали изменения группы митохондриально связанных дегидрогеназ – стимуляция глутатаматдегидрогеназы при ингибировании дегидрогеназ гликолиза и конкурентного с ним «пентозо-фосфатного пути» превращений глюкозы. Печеночная паренхима опиатных наркоманов отличается низким уровнем процессов биосинтеза коэнзима А, судя по снижению активности бэта-оксибутиратдегидрогеназы, участвующей в кооперации метаболизма белков, углеводов и липидов.

Исследования такого рода выполнены в хирургической клинике с целью поиска разграничительных критериев диагностики острого катарального, флегмонозного, гангренозного холецистита и его бескалькулезной формы, а также особенностей паренхимы печени у больных с обтурацией общего желчного протока. Существенное значение для понимания дискооперации метаболизма паренхимы печени больных холециститом имеет изменение соотношений активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы по сравнению с устанавливаемым уровнем лактатдегидрогеназы. У больных острым катаральным и его бескаменной формой значения активности «маркера» «пентозного шунта» становятся заметно выше по сравнению с уровнем глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы у больных остальными формами холецистита.

Материалы подобного вида до настоящего времени являются приоритетными в связи с отсутствием подобных разработок применительно к анализу клинической практики. Переход на такой вид исследования требует отвлечения от традиционной клинической морфологии и биохимии. Гистохимическая аналитическая техника сегодня очень робко внедрена в диагностическую тактику, за исключением, пожалуй, некоторых сторон гематологической диагностики. Стремительно расширяющаяся иммуноцитохимическая деятельность в прикладной медицине по-существу дела сегодня практически заслоняет все альтернативные возможности, которые на таком фоне выглядят часто архаичными. Тем не менее, она не может предоставить такой области деятельности для клинического цитохимика как возможности исследования кооперации и дискооперации метаболических путей, объединяя и обогащая морфологию, биохимию и патофизиологию одновременно.

Литература:

1. Резников К.М. Общие механизмы формирования ответных реакций организма на воздействия факторов окружающей среды. Прикладные информационные аспекты медицины. –Воронеж, 1998. Т.1. 4-7 с.
2. . Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990.- 384 с. 290.

Abstract

**E.G.Bykov, M.S.Evtееva**

**THE COORDINATED CHANGES OF THE METABOLISM IN THE ESTIMATION OF MECHANISMS OF DAMAGE, INDEMNIFICATION AND ADAPTATION**

Materials of a similar kind till now are priority in connection with absence of similar development with reference to the analysis of clinical practice.