

УДК 612.01.591.1.612.015.3

Н.И.Байрамова

*Бакинский Государственный Университет, докторант
naile.allahverdiyeva16@gmail.com*

РАННИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЛАКТАТА В КРОВИ НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРОЛИКОВ, ПОДВЕРГНУТЫХ ГИПОКСИИ И ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Ключевые слова: *неполовозрелый кролик, гипоксия, беговая нагрузка, иммобилизация, кровь, лактат*

Опыты на 3-месячных кроликах показали, что 20-минутная экзогенная тяжелая гипоксия в камерных условиях приводит к выраженному повышению лактата в крови в первые часы воздействия. Иммобилизация (жесткое прикрепление к платформе), как вид физической нагрузки, в течение 1 часа слабо меняет содержание лактата в крови. 10-минутный бег в быстро вращающемся тредбане способствует значительному увеличению лактата в крови, но с более быстрой динамикой восстановления, чем при гипоксии. Комплексное применение гипоксии и беговой нагрузки вызывает более выраженную и устойчивую динамику в росте лактата в крови. Через 6 часов при восстановлении содержание лактата в крови достигает уровня несколько выше нормы, хотя разница не является статистически достоверной. Обнаруженные при гипоксии и беговой нагрузке первичные изменения концентрации лактата в крови, по всей видимости, отражают уровень интенсификации анаэробного гликолиза и вторичной метаболизации лактата в незрелом организме.

N.İ.Bayramova

HİPOKSIYA VƏ FİZİKİ YÜKÜN TƏSİRİNƏ MƏRUZ QALMIŞ CİNSİ YETİŞKƏNLİYƏ ÇATMAMIŞ DOVŞANLARIN QANINDA LAKTATIN ERKƏN DƏYİŞİKLİKLƏRİ (EKSPERİMENTAL TƏDQIQAT)

Açar sözlər: *cinsi yetişkənliyə çatmamış dovşan, hipoksiya, fiziki yük, immobilizasiya, qan, laktat*

3 aylıq dovşanlar üzərində aparılan təcrübələr göstərir ki, kamera şəraitində 20 dəqiqəlik ekzogen ağır hipoksiyanın təsirindən ilk saatlarda qanda laktatın əhəmiyyətli dərəcədə artması baş verir. 1 saat ərzində immobilizasiya (platformaya sərt bağlanma) qanda laktatın miqdarını cüzi dəyişir. Sürətlə fırlanan tredbanda 10 dəqiqəlik qaçış qanda laktatın səviyyəsinin xeyli yüksəlməsinə gətirir, lakin hipoksiyadan fərqli olaraq

bərpanın sürəti daha yüksək olur. Hipoksiya və qaçış yüklənməsinin kompleks tətbiqi qanda laktatın artımında daha davamlı dinamikaya səbəb olur. 6 saatdan sonra bərpa zamanı qanda laktatın miqdarı normadan bir qədər yüksək səviyyəyə düşür, lakin fərqi etibarlılığı aşağıdır. Hipoksiya və qaçış yüklənməsi zamanı qanda laktatın konsentrasiyasında aşkar edilmiş ilkin dəyişikliklər görünür ki, yetişməmiş orqanizmdə anaerob qlikolizin intensivləşməsinin və laktatın ikincili metabolizminin dərəcəsinə əks etdirir.

N.I.Bayramova

EARLY CHANGES IN LACTATE IN THE BLOOD OF SEXUALLY IMMATURE RABBITS UNDER THE INFLUENCE OF HYPOXIA AND PHYSICAL LOAD (EXPERIMENTAL STUDY)

Keywords: *immature rabbit, hypoxia, running load, immobilization, blood, lactate*

The experiments on 3-month-old rabbits have shown that 20-minute exogenous severe hypoxia in chamber conditions leads to a pronounced increase in lactate in the blood during the first hours of exposure. As a type of physical activity, 1hour immobilization (rigid attachment to the platform) weakly changes the lactate content in the blood. A 10-minute run in a rapidly rotating treadmill contributes to a significant increase in lactate in the blood, but with a faster recovery dynamics than under the action of hypoxia. The combined use of hypoxia and running load causes a more pronounced and stable dynamics in the growth of lactate in the blood. After 6 hours of recovery, the lactate content in the blood reaches a level slightly higher than normal, although the difference is not statistically significant. The primary changes in the concentration of lactate in the blood detected during hypoxia and running load, apparently, reflect the level of intensification of anaerobic glycolysis and secondary lactate metabolism in an immature organism.

Введение

Лактат (молочная кислота), наряду с пируватом, является конечным продуктом анаэробного гликолиза - неполного бескислородного расщепления глюкозы в цитозоле клеток животного организма при нехватке в них кислорода и АТФ. Содержание лактата в тканях, и особенно в крови, служит важным показателем, указывающим на уровень интенсивности гликолиза при разных условиях внешней среды, при кислородном голодании или физических нагрузках.

Образование лактата хорошо изучено в тканях скелетных мышц и мозга. Установлено, что при наличии в цитозоле клеток окислительно-восстановительного комплекса (НАД⁺ и НАДН) и фермента

лактатдегидрогеназы (ЛДГ), часть образовавшегося при анаэробном гликолизе пируват превращается в лактат [6,9]. Полагают, что часть лактата посредством специального клеточно-мембранного транспортного механизма высвобождается из клеток в межклеточную среду, и далее поступает в циркулирующую кровь. Лактат для организма является вредным метаболитом, и поэтому он метаболизируется в печени, и часть лактата снова включается в углеводный обмен как дополнительный субстрат для образования АТФ в клетках.

В ранних исследованиях было установлено, что в организме человека до пубертатной стадии содержание лактата и пирувата, а также общая активность фермента ЛДГ в крови с возрастом увеличивается. Как у мальчиков, так и у девушек в возрасте от 7 до 11-13 лет было отмечено возрастание содержания лактата в крови от $7,6 \pm 0,38$ мг% до $14,6 \pm 1,63$ мг% (у мальчиков) и от $8,3 \pm 0,48$ мг% до $13,8 \pm 0,99$ мг% (у девушек). Общая активность ЛДГ в крови до 10 лет коррелирует с этой динамикой [3]. Видимо, такая закономерность, скорее всего, обусловлена с ростом физической активности у детей и подростков в период их интенсивного развития. Циклы увеличения и снижения активности ЛДГ в крови у студентов чередовались в зависимости от степени и продолжительности физических нагрузок, а также от того, сколько времени они тратили на отдых [12]. Субмаксимальная физическая нагрузка сопровождалась увеличением в крови лактата и ацидоза [5].

В последние годы много внимания уделяют экспериментальному изучению активности гликолитических ферментов и количественных изменений пирувата и лактата в тканях, когда организм оказывается в состоянии гипоксии или находится под напряженной физической нагрузкой разного типа, или же под влиянием других экстремальных факторов. Тут важный аспект, это выяснение физиологических сторон адаптивных преобразований метаболизма лактата при различных внешних воздействиях на организм, и в зависимости от периода его постнатального развития.

Исходя из вышеуказанного, мы посчитали важным экспериментально изучить раннюю динамику лактата в крови незрелого животного, когда его подвергают отдельно и комплексно к разнородным воздействиям. С этой целью мы исследовали влияние тяжелой экзогенной гипоксии, субмаксимальной иммобилизации и вынужденного бега во вращающемся барабане на содержание лактата в крови кроликов неполовозрелого возраста, и определили его дневную динамику после таких воздействий.

Методика исследования

Для исследования использовали 3-месячные кролики породы Шиншилла, содержащиеся в стандартном режиме вивария, в условиях нормального ухода и кормления. Их группировали, исходя из задач исследования, в контрольную и 4 экспериментальные группы, каждая из которых была составлена из 5 особей, всего было 25 животных.

Кролики первой экспериментальной группы, каждый в отдельности, помещались в специальную стеклянную камеру малых размеров с вентиляционными приспособлениями, куда в течение 20 минут подавали из кислородного баллона O_2 в объеме 5%, а из азотного баллона N_2 в объеме 95%. Кролики второй экспериментальной группы, каждый в отдельности, привязывались к платформе на спине и держались в таком положении в течение 1 часа. Животные третьей опытной группы также в отдельности помещались в экспериментальный барабан (тредбан), который вращался со скоростью 40-45 об/мин в течение 10 минут, тем самым кролик был вынужден совершать бег на месте по темпу вращения барабана. Кролики четвертой опытной группы, каждый в отдельности, сначала подвергались гипоксии, а затем давалась беговая нагрузка в барабане в тех же условиях, как описано выше.

У каждого кролика, как контрольной группы, так и экспериментальных групп, из краевой вены уха, нанеся на неё легкий надрез стерильным ланцетом, получали по 1 мл крови для определения лактата. У кроликов экспериментальных групп получение крови осуществляли через 1, 3 и 6 часов после гипоксической экспозиции, физической нагрузки и их сопряженного применения.

Лактат в крови определяли колориметрическим способом, указанным в методических пособиях по биохимическим анализам. Проба крови в 1 мл, предназначенная для каждого анализа, обрабатывали соответствующими реактивами, а полученный прозрачный центрифугат синего цвета в объеме 1 мл колориметрировали при длине волны 430 нм (в контроле – 1 мл воды). Колориметрические показатели лактата в каждой пробе крови рассчитывали по калибровочной кривой с учетом коэффициента K ($K=V/v$, где V - общий объем анализируемой крови в мл; v - объем безбелкового и безуглеводного центрифугата). Количество лактата в крови было выражено мг%-ах.

Результаты определения лактата в крови контрольных и опытных 3-месячных кроликов обрабатывали параметрически, с использованием t -критерия Стьюдента, разности между средними значениями по группам считали достоверными при $p<0,05$, результаты измерений представлены в виде среднего значения (M) и средней ошибки (m) ($M\pm m$).

Результаты исследования и их обсуждение

Исследование показало, что у животных, в данном случае у кроликов, достигших 3- месячного возраста, и которые могут выполнять весьма активные локомоторные акты, в крови обнаруживается лактат в измеряемых количествах. По нашим данным у нормально развивающихся 3-месячных кроликов уровень лактата в крови варьирует в пределах $4,60 \pm 0,48$ мг%, что свидетельствует об активизации в этом возрасте гликолиза и образования лактата в тканях организма.

Существуют физиологические и биохимические доказательства о том, что у высших организмов, и тем более у тех, которые часто совершают сложные двигательные акты, энергетические потребности и расходы меняется, иногда очень быстро и резко, в зависимости от ситуации, на них воздействующих. Многие физиологические функции и метаболические звенья в организме, и главным образом, клеточный энергетический обмен сильно нарушается тогда, когда организм оказывается в состоянии нехватки кислорода; такая гипоксия особенно опасно для усиленно функционирующих органов и тканей (мозг, мышцы) и во время совершения физических (двигательных) поведенческих актов высокого напряжения. В этот момент организму очень нужна глюкоза как «быстрое топливо», и её бескислородное ферментативное расщепление с выходом некоторого количества свободной энергии – АТФ. В предыдущих наших исследованиях, выполненных на 3-месячных кроликах, было показано, что при тяжелой гипоксии у них в первые часы сильно повышается концентрация глюкозы в крови [4], а также увеличивается содержание общего гемоглобина в крови [2]. Мы охарактеризовали эти реакции как адаптивные, направленные на быстрое и дополнительное снабжение мозга и мышц глюкозой, а также и кислородом, пусть даже в малых количествах, возможных при экзогенной гипоксии.

Как продолжение этих серийных исследований, мы изучали у 3-х месячных кроликов раннюю динамику лактата в крови сразу же после предельно тяжелой экзогенной гипоксии, относительной иммобилизации (гипокинезии) и короткого по времени вынужденного бега во вращающемся барабане (тредбане). Результаты этих опытов показаны в таблице.

Как видно из таблицы, у 3-месячных кроликов, подвергнутых к 20-минутной экзогенной гипоксии в тяжелой форме (дыхание в среде с 5%-ным O_2 в азоте), в ранний период её воздействия в крови происходит значительное повышение содержание лактата (до 6,5-6,8 мг%, $p < 0,05$). Гипоксия, по представлению многих исследователей, одновременно является фактором экстремального, стрессорного и патогенного характера, её тягчайшее действие на организм детерминировано прежде всего дезактивацией митохондриальных ферментов цикла окислительного

Таблица

Содержание лактата в крови у 3-месячных кроликов в условиях нормы и эксперимента с влиянием гипоксии, физической нагрузки в отдельности и их сочетания ($M \pm m$, мг%)

Норма	Условия опытов	Содержание лактата в крови		
		через 1 час	через 3 часа	через 6 часов
4,6±0,48	20-минутная тяжелая гипоксия в камере	6,5±0,27*	6,8±0,46*	5,2±0,35
	Иммобилизация на платформе в течение 1 часа	5,4±0,20	5,0±0,16	4,1±0,23
	10-минутный бег в быстро вращающемся барабане	6,9±0,43**	5,4±0,24	4,4±0,30
	Гипоксия + бег при тех же условиях, указанных выше	7,8±0,37**	7,5±0,28**	5,4±0,26

Примечание: знаки * и ** - указывают на достоверность опытных данных по отношению к норме при $p < 0,05$ и $p < 0,01$

фосфорилирования и синтеза АТФ, так называемом - «митохондриальном шоком», рано наступающий в клетках, чем другие постгипоксические нарушения [7]. И вследствие этого, клетки быстро переходят на анаэробный гликолиз энергообеспечения, об интенсивности которого можно судить, кроме других его параметров, также и по активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), и по содержанию лактата в тканях, в том числе в крови. Некоторые исследователи установили, что при тяжелой экзогенной гипоксии в тканях мозга кроликов месячного возраста активность ЛДГ значительно увеличивается в ранних сроках её воздействия [8]. Так, что наши данные по лактату в крови у тяжело гипоксированных кроликов 3-месячного возраста могли быть вполне закономерными.

Модель иммобилизация мелких лабораторных животных часто применяется в физиологических экспериментах. Жесткая и длительная фиксация животного на спине к станку или платформе, является сильно беспокоящим фактором для него. Установлено, что иммобилизация вызывает в организме подопытного животного ряд метаболических сдвигов, часто анаболического характера, и при этом синтез белков из аминокислот усиливается [11], и она может выступать как стрессор, вызывающий эмоциональную напряженность и способствующий изменению статуса моноаминергических нейромедиаторных систем головного мозга [1]. Наши опыты, где мы применяли иммобилизацию, как физическую нагрузку, показали, что при этом в уровне лактата крови какие-либо выраженные изменения не происходят, лишь в первый час у иммобилизованного кролика обнаруживается некоторое увеличение лактата (до 5,4 мг %). Это показывает, что при относительно низкой подвижности животного организма анаэробный гликолиз в скелетных мышцах мог бы и не активизироваться.

Другой вид физической нагрузки - быстрый и короткий по времени бег в тредбане, наоборот, вызывал у кроликов 3-месячного возраста более выраженное повышение содержания лактата в крови. На первый срок опыта оно достоверно достигала до уровня 6,9 мг% ($p < 0,01$), однако в отличие от гипоксии, здесь динамика восстановления оказалась более быстрой. Давно установлено, что у спринтеров, выполнявших бег на дистанцию 100 метров, в кровь поступает большое количество пирувата и лактата. Существуют многочисленные исследования, свидетельствующие о том, что физические, и особенно, циклические физические действия высокой напряженности, трудные спортивные соревнования или тренировки сильно изменяют концентрацию многих метаболитов в крови молодых спортсменов. Физические нагрузки высокой интенсивности активизируют многие клеточные и органые функции, а также антиоксидантные защитные системы в тканях [10].

Интересным с точки зрения экспериментального подхода к выяснению ранних изменений было изучение уровня лактата в крови 3-месячных кроликов после сопряженного применения к ним гипоксии и вынужденного бега последовательно. Такое комплексное действие двух сильных нагрузок оказывало на состояние кроликов явно отрицательное влияние, что они не были способны к активному беговому акту. Только после снижения скорости вращения барабана до 30-35 об/мин животные смогли совершить 10-минутный бег. Измерения уровня лактата в крови после комплексной нагрузки обнаружили достаточно высокое содержание лактата $7,8 \pm 0,37$ мг% через час после нагрузки, $7,5 \pm 0,28$ мг% ($p < 0,01$) через 3 часа после нагрузки ($p < 0,01$). Через 6 часов после комплексной нагрузки уровень лактата не снизился до контрольной величины, как это случалось при тесте беговой нагрузки в отдельности, оставаясь на уровне $5,4 \pm 0,26$ мг%.

Таким образом, обнаруженные при гипоксии и беговой нагрузке первичные изменения концентрации лактата в крови, по всей видимости, свидетельствуют в пользу интенсификации анаэробного гликолиза и вторичной метаболизации лактата в незрелом организме.

Выводы

1. Экзогенная тяжелая гипоксия для 3-месячных неполовозрелых кроликов оказалась фактором, быстро усиливающим анаэробный гликолиз в организме, и как следствие, сильно повышающим концентрацию лактата в крови в раннем этапе своего воздействия.
2. Интенсивная физическая нагрузка (бег) также способствует раннему повышению лактата в крови молодого организма.
3. Физическая напряженность, последующая сразу после гипоксии, вызывает более устойчивое повышение содержание лактата в крови

незрелых животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Аминов А.Н.* Влияние эмоциональной напряженности обусловленной иммобилизационной нагрузкой на компоненты моноаминоэргической системы мозга /Тр. Ин-та физиологии им. акад. А.И.Караева НАН Азербайджана, Баку, 2009, т. XXVII, с.28-31 (на азерб. языке)
2. *Байрамова Н.И.* Первичные количественные изменения гемоглобина в крови при гипоксии и физической нагрузке в раннем постнатальном онтогенезе // Научно-практический журнал молодого исследователя. Издание НАН Азербайджана, Баку, 2022, т. 8, №1, с. 40-45 (на азерб. языке).
3. *Борисова Т.А.* Возрастная динамика ферментативной активности крови /Мат. VI Всесоюз. конф. по физиол. в.н.с., Ереван, 1986, с. 49.
4. *Гаджиев А.М., Байрамова Н.И.* Ранние сдвиги в гомеостазе глюкозы крови половозрелых кроликов, подвергнутых гипоксии и физической нагрузке // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. Сер. биол. науки, М., «Академия Естествознания», 2021, № 8, с. 5-8.
5. *Ефименко А.М., Ширяев В.В., Точкачева Н.В. и др.* Динамики показателей крови при физических нагрузках различной интенсивности /Мат IV съезда Всесоюз. Физиол. Общ. им.И.П.Павлова, Баку, 1983, т.2. с.378.
6. *Ленинджер А.* Основы биохимии М.»Мир», 1985, т. 2, с. 471-472.
7. *Лукьянова Л.В.* Современные проблемы гипоксии //Вестник РМАН, 2000, № 3, с. 3-12.
8. *Рашидова К.Г., Агаев Т.М.* Активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в мозге крыс, подвергнутых гипоксии // Тр.Ин-та физиологии им.акад. А.И.Караева НАН Азербайджана, 2015, т. XXXIII, с. 116-123 (на азерб. языке)
9. *Avital S.* Lactate: a major and eritical player in normal function of both muskule and brain // The jornal of physiology, 2008, v.586, VII, p.2665-2667/
10. *Banerjec A.K., Wandal S., Chanda D.* Oxidant, antioksidant and physical exercise // Mol.and Cell. Biochem, 2003, v.253, p.307-312.
11. *Elisa I.C., Stuart M., Ph., Bryan R.O. et al..* Immobilization induces anabolic resesteno in miofibrillar protein synthesis with low and high amino acrd infusion //The jornal of Physiology? 2008, v. 586, N24, p. 6049-6063.
12. *Salehzade K.* Veryfying the effects of cycling exercises on concentration of LDQ in students blood //Prosedings of A.I.Garayev Instute of Physiolojiof IVAS Azerbaijan, 2008, v.XXVI, p.200-207.

Redaksiyaya daxil olub 18.08.2022