

Г. А. ГЕВОРКЯН, А. А. СИМОНЯН, Р. А. СТЕПАНЯН, Л. О. ВОСКАНЯН

НЕКОТОРЫЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИТОХОНДРИЙ СЕРДЦА КУР В ОНТОГЕНЕЗЕ

Выделенные четыре отдельные популяции митохондрий сердечной мышцы 15-20-дневных куриных эмбрионов, 5-дневных цыплят и годовалых кур проявляют различную АТРаэную активность. Активность фермента постепенно возрастает от фракции M_1 к M_4 . Различия отмечаются как в отношении активности общей, так и Mg^{2+} , Ca^{2+} и ДНФ-стимулируемых АТРаэ.

При изучении биохимических и физиологических закономерностей в онто- и филогенетическом аспекте весьма важное место отводится исследованию действия ферментов, активно участвующих в генерации и распаде богатых энергией макроэргов. В этом аспекте интерес представляют работы, относящиеся к энергетической функции различных митохондриальных фракций в отдельные периоды онтогенетического развития животных. В настоящее время морфологическими и биохимическими исследованиями показано, что изолированные митохондрии (МХ) одной и той же популяции гетерогенны по своим структурным и химическим особенностям [1—4]. Гетерогенность их выражается не только в формах и размерах, но и в разнообразии внешних и внутренних мембран, величине и структуре крист. В наших предыдущих работах [5, 6] было показано, что отдельные популяции МХ мозга и печени куриного эмбриона и годовалых кур, полученные дифференциальным центрифугированием, отличаются по уровню дыхания и окислительного фосфорилирования, а также по влиянию дыхательных ядов на эти процессы. Монаховым [1] показана гетерогенность МХ сердца кролика и клеток асцитической карциномы Эрлиха. На основании приведенных литературных и наших данных мы нашли целесообразным исследовать гетерогенность различных популяций МХ сердечной мышцы кур в отдельные периоды их онтогенетического развития. Изучались АТРаэная активность, количественные сдвиги митохондриального белка, сухого остатка и свободного неорганического фосфата ($P_{неорг.}$) в изолированных МХ сердца по ходу онтогенетического развития кур.

Материал и методика. Опыты проводили на 15-, 20-дневных эмбрионах, 5-дневных цыплятах и годовалых курах белой русской породы. Возраст эмбрионов определяли по срокам инкубации и коррелировали по таблицам морфологического развития куриного эмбриона [7]. Методики изолирования суммарной фракции МХ сердца, определения их чистоты и целостности, окислительного фосфорилирования, аденозинтрифосфатазной (АТРаэной) активности, $P_{неорг.}$ и митохондриального белка приведены в наших предыдущих работах [8, 9].

Для получения МХ субфракций ткань гомогенизировали в растворе 0,25 М сахаразы—0,02 М трис-НСl буфера, рН 7,4 (ткань: среда=1:10). Разделение митохондриальной субфракции сердца проводили в центрифуге марки «Lourdes» по следующей схеме: M_1 фракция при 600 г, M_2 —2300 г, M_3 —9400 и M_4 —при 20000 г [1]. Время центрифугирования—5 мин.

Результаты и обсуждение. Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что в суммарной МХ фракции сердца АТРазная активность без добавления активаторов постепенно усиливается по ходу развития куриного эмбриона, достигая максимума в ткани 5-дневных цыплят. В сердце годовалых кур активность фермента несколько снижается, по сравнению с 5-дневными цыплятами. Аналогичным изменениям подвергается также становление активности Mg^{2+} , Ca^{2+} и ДНФ-зависимых АТРаз. Приведенные результаты полностью согласуются с нашими предыдущими данными о динамике активности АТРазы МХ мозга и печени кур при онтогенетическом развитии [10]. Аналогичные результаты в отношении АТРазной активности в митохондриях гладких мышц куриного эмбриона получены Ареге и Босиа [11].

Приведенные данные об активности как общей, так и Mg^{2+} , Ca^{2+} и ДНФ-стимулируемых АТРаз в изолированных МХ сердца кур в онтогенезе полностью совпадают с данными, полученными в отношении дыхания и окислительного фосфорилирования [9]. В течение эмбриогенеза, начиная с первых дней плодной стадии, усиливаются процессы генерирования макроэргов в дыхательной цепи МХ сердечной мышцы, параллельно активируются и гидролизующие системы. При активном взаимодействии этих двух метаболических процессов образуется большое количество свободной энергии, используемой для покрытия функциональных нужд ткани.

Ранее мы показали, что активность АТРазы в различных субфракциях МХ мозговой и печеночной тканей возрастает от M_1 к M_4 . Приведенные в табл. 1 данные показывают, что АТРазная активность в четырех отдельных популяциях сердца кур как в эмбриональном, так и постэмбриональном периоде также повышается от фракции M_1 к M_4 . Наблюдаемая закономерность отмечается как в контрольных опытах, так и при добавлении Mg^{2+} , Ca^{2+} и ДНФ.

В опытах Монахова [1] гетерогенность МХ сердечной мышцы кролика также показана на примере энергетического метаболизма. В его опытах чистыми, в морфологическом отношении однородными и обладающими интенсивной дыхательной способностью оказались МХ фракции M_2 и M_3 . Уровень дыхательного фосфорилирования высокий в M_2 . Литературные данные и полученные нами результаты дают основание предполагать наличие в клетке различных типов митохондрий, функционально отличающихся друг от друга. Имеется выраженная корреляция между дыхательной активностью и внутренней структурой в отдельных популяциях МХ различных тканей, что согласуется с данными, полученными Паладом [12]. Можно полагать, что имеющиеся в клетке отдельные типы МХ соответствуют их различным стадиям развития.

Таблица 1

АТРазная активность в различных субфракциях митохондрий сердечной мышцы кур в онтогенезе. Р в мкатамах/мг белка. М±т.

| Фракции МХ | Дни развития | Контроль | Mg ²⁺ | Ca ²⁺ | ДФ |
|----------------|--------------------|------------|------------------|------------------|------------|
| M ₀ | 15-дневный эмбрион | 1,82±0,26 | 3,82±0,31 | 3,58±0,05 | 4,70±0,37 |
| | 20-дневный эмбрион | 3,03±0,38 | 4,46±0,75 | 4,26±0,51 | 6,35±0,96 |
| | 5-дневные цыплята | 4,65±0,65 | 7,87±0,41 | 8,04±0,93 | 5,93±0,50 |
| | Годовалые куры | 3,56±0,34 | 5,67±0,96 | 3,94±0,39 | 3,59±0,39 |
| M ₁ | 15-дневный эмбрион | 2,38±0,16 | 3,83±0,18 | 3,19±0,09 | 3,77±0,07 |
| | 20-дневный эмбрион | 5,02±0,32 | 5,48±0,75 | 4,09±0,68 | 5,29±0,58 |
| | 5-дневные цыплята | 8,47±0,56 | 8,11±1,38 | 6,88±1,28 | 8,76±1,32 |
| | Годовалые куры | 1,76±0,22 | 2,06±0,29 | 1,69±0,27 | 1,78±0,24 |
| M ₂ | 15-дневный эмбрион | 7,50±0,24 | 11,59±0,37 | 9,17±1,21 | 9,57±1,60 |
| | 20-дневный эмбрион | 6,45±1,65 | 8,29±1,65 | 5,30±0,50 | 6,66±0,97 |
| | 5-дневные цыплята | 9,44±2,47 | 11,74±2,07 | 8,69±1,35 | 7,84±0,39 |
| | Годовалые куры | 1,95±0,21 | 2,22±0,23 | 1,67±0,17 | 1,96±0,23 |
| M ₃ | 15-дневный эмбрион | 6,72±0,94 | 18,43±2,00 | 12,20±1,34 | 9,95±2,23 |
| | 20-дневный эмбрион | 8,18±1,62 | 10,23±1,74 | 6,40±0,96 | 9,07±0,98 |
| | 5-дневные цыплята | 9,11±0,33 | 10,70±3,50 | 7,16±1,64 | 11,68±0,33 |
| | Годовалые куры | 3,11±0,36 | 3,77±0,47 | 2,93±0,32 | 3,32±0,35 |
| M ₄ | 15-дневный эмбрион | 8,22±0,81 | 30,61±0,31 | 16,92±0,35 | 11,59±0,47 |
| | 20-дневный эмбрион | 11,42±2,70 | 16,79±3,00 | 8,00±0,48 | 11,90±1,34 |
| | 5-дневные цыплята | 9,74±0,47 | 14,11±1,97 | 17,20±1,22 | 11,64±0,85 |
| | Годовалые куры | 3,67±0,94 | 8,47±0,99 | 4,57±0,46 | 3,70±0,77 |

Средние данные 4—6 опытов. Время инкубации—30 мин при 37°.

Ранее из печени 16—20-дневных куриных эмбрионов нами был выделен естественный разобщающий фактор окислительного фосфорилирования [13]. Под действием этого фактора дыхание в изолированных МХ мозга и печени значительно усиливалось, а процесс эстерификации неорганического фосфата подавлялся и, соответственно, уменьшался коэффициент соотношения окисления и фосфорилирования. АТРазная активность в присутствии этого фактора значительно повышалась. Используя результаты этой работы, в отдельных опытах мы исследовали влияние этого фактора, выделенного из печени эмбрионов, на интенсивность дыхания и окислительного фосфорилирования, а также АТРазную активность в МХ сердца 2-дневных цыплят.

Таблица 2

Влияние фактора, выделенного из печени куриного эмбриона, на интенсивность дыхания и окислительного фосфорилирования в МХ сердечной мышцы 2-дневных цыплят (субстрат—сукцинат). О и Р в мкатамах/мг белка/45 мин М±т

| Условия опыта | О | Р | Р/О |
|---------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Контроль | 4,62±0,17 (4) | 5,55±0,13 (4) | 1,21±0,02 (4) |
| Фактор | 4,95±0,22 (4) p>0,200 | 2,69±0,12 (4) p<0,001 | 0,55±0,03 (4) p<0,001 |

Температура инкубации—26°.

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что под действием добавленного фактора дыхание в изолированных МХ сердечной ткани 2-дневных цыплят лишь немного усиливается по сравнению с контролем. Однако процесс эстерификации неорганического фосфата значительно подавляется ($p < 0,001$) и соответственно уменьшается Р/О. В условиях этих опытов (в присутствии выделенного фактора) АТРазная активность в МХ достоверно повышается (табл. 3).

Т а б л и ц а 3
Влияние фактора на АТРажную активность
в изолированных МХ сердечной мышцы
2-дневных цыплят. Р в мкатамах/мг
белка. $M \pm m$

| Контроль | Фактор |
|--------------------|-----------------------------------|
| 3,67 ± 0,14 (4) | 4,88 ± 0,02 (4) $p < 0,001$ |

Время инкубации—30 мин при 37°.

Приведенные выше данные свидетельствуют о важной биологической роли этого фактора в ткани печени эмбрионов кур в определенный период их развития, показывают универсальность его действия на окислительные процессы различных тканей. Одновременно с питательной функцией, по-видимому, отмеченный фактор играет весьма важную роль в регуляции уровня свободного и сопряженного окисления как в печени, так и в других органах.

В последующей серии опытов мы исследовали количественные сдвиги митохондриального белка, сухого остатка и свободного фосфата в изолированных МХ сердца кур в различные периоды их онтогенетического развития (табл. 4). Результаты проведенных исследований

Т а б л и ц а 4
Количественные сдвиги белка, сухого остатка и свободного фосфата
в МХ сердца кур в онтогенезе. $M \pm m$.

| Дни развития | МХ белок | Сухой остаток | Рнеорганический мкатамы/г влажной ткани |
|-------------------|--------------------|---------------------|---|
| | мг/г влажной ткани | | |
| 15 | 6,26 ± 0,36 (5) | 144,9 ± 1,89 (4) | 5,24 ± 0,18 (6) |
| 20 | 6,78 ± 0,15 (5) | 145,9 ± 9,16 (4) | 5,12 ± 0,34 (5) |
| 5-дневные цыплята | 6,75 ± 0,51 (6) | 167,0 ± 15,9 (4) | 5,22 ± 0,48 (8) |
| Годовалые куры | 6,92 ± 0,42 (8) | 181,4 ± 7,34 (7) | 5,81 ± 0,16 (7) |

показали, что общее количество белка в МХ сердца куриного эмбриона начиная с 15-го и до 20-го дня постепенно возрастает. Однако по сравнению с мозговой тканью прирост количества белка здесь незначительный [10]. Так, например, если у 20-дневных эмбрионов прирост мито-

хондриального белка сердца, по сравнению с 15-дневными, составляет всего 108,3%, то в мозговых МХ—150%. Эти данные свидетельствуют об усиленном синтезе белка в мозгу по сравнению с митохондриями сердца по ходу эмбрионального развития кур. Количество сухого остатка в МХ сердца в эмбриональный период находится на одном и том же уровне и колеблется в пределах 144,9—145,9 мг/г влажной ткани. Дальнейшее увеличение количества сухого остатка наблюдается в МХ сердца 5-дневных цыплят и годовалых кур. Аналогичным изменениям подвергается также количество свободного фосфата в МХ.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 15.VII 1976 г.

Գ. Ա. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Ա. Ա. ՄԻՄՈՆՅԱՆ, Ռ. Ա. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ, Լ. Հ. ՈՍԿԱՆՅԱՆ

ՄՐՏԻ ՄԻՏՈՔՈՆՊՐՈԻՆԱՆԵՐԻ ՄԻ ՔԱՆԻ ՖՈՒՆԿՑԻՈՆԱԼ
ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՀԱՎԵՐԻ ՕՆՏՈԳԵՆՆՁՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հավի օնտոգենետիկ զարգացման տարբեր շրջաններում սրտամկանից անջատված միտոքոնդրիաների տարբեր պոպուլյացիաները հետերոգեն են ԱՏՔ-ազայի ակտիվության տեսակետից: Ֆերմենտի ակտիվությունը միտոքոնդրիաների ծանր ֆրակցիաներից դեպի թեթևը աստիճանաբար աճում է: Ուղեղի և լյարդի միտոքոնդրիաների տարբեր պոպուլյացիաներում օքսիդովերականգնման պրոցեսների վերաբերյալ ուսումնասիրություններից ստացված և գրականության մեջ եղած տվյալների հիման վրա եկել ենք այն եզրակացության, որ բջջում գոյություն ունեցող միտոքոնդրիաների առանձին տիպերը համապատասխանում են դրանց զարգացման տարբեր ստադիաներին: Հետազոտվել է նաև հավի սաղմի լյարդից անջատված օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացումը փեղեքող բնական ֆակտորի ազդեցությունը սրտամկանի միտոքոնդրիաներում շնչառության ինտենսիվության վրա՝ կապված ֆոսֆորիլացման և ԱՏՔ-ազայի ակտիվության հետ: Ուսումնասիրվել են հավի օնտոգենետիկ զարգացման տարբեր ստադիաներում միտոքոնդրիաներում սպիտակուցի, շոր նյութի և ազատ ֆոսֆատի քանակական տեղաշարժերը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Моныхов Н. К. Автореф. канд. дисс., Л., 1965.
2. De Duve C., Berthet J. Intern. Rev. Cytol., 3, 225, 1965.
3. De Robertis E., De Iraldi A. P., Arnaz De Lores G. R., Salganicoff L. J. Neurochem., 9, 23, 1962.
4. Tanaka R., Abood L. G. J. Neurochem., 10, 571, 1963.
5. Симомян А. А. Изв. с/х наук МСХ АрмССР, 3, 89, 1970.
6. Симомян А. А., Степанян Р. А. Вопросы биохимии мозга. Ереван, 6, 231, 1971.
7. Hamilton H. Lillies development of the chick. N. Y., 1952.
8. Симомян А. А., Геворкян Г. А., Степанян Р. А., Восканян Л. О. ДАН АрмССР, 1, 46, 1976.

9. *Симонян А. А., Геворкян Г. А., Степанян Р. А., Восканян Л. О.* Биологический журнал Армении, 29, 2, 97, 1976.
10. *Симонян А. А.* Докт. дисс., Ереван, 1973.
11. *Arege P., Bosta A.* Biol. Soc. Ital. Biol. Sperim., 41, 15, 826, 1965.
12. *Palade G. E.* In; Enzymes: units of biological structure and function. 185, 1956.
13. *Симонян А. А.* Некоторые стороны энергетического обмена в онтогенезе кур. Ереван, 1970.

