

А. А. СИМОНЯН, К. С. АБРАМЯН, Г. А. ГЕВОРКЯН, Р. Б. БАДАЛЯН
Л. А. ШАТВЕРОВА

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИТОХОНДРИЙ СЕРДЦА И ПЕЧЕНИ КУР В ОНТОГЕНЕЗЕ

Электронномикроскопическим методом исследованы митохондрии печени и сердца кур в различные периоды эмбрионального и постэмбрионального развития. Обнаружены определенные изменения в тонкой структуре этих органоидов.

Благодаря широкому применению электронной микроскопии за последнее десятилетие достигнуты большие успехи в области исследования тонкой организации изолированных митохондрий сердца и печени при различных воздействиях и функциональных состояниях. Изучение структуры и метаболических проявлений митохондрий является особенно важным потому, что эти клеточные органоиды представляют собой наиболее яркий пример структурно-функционального единства. В целом ряде работ [1—5], проведенных на изолированных митохондриях сердца и печени, показано, что в зависимости от уровня метаболизма и различных компонентов среды инкубации или выделения размеры и форма митохондрий могут меняться. Существует гипотеза, согласно которой энергия, освобождающаяся при окислении субстратов, может переходить в энергию конформации молекул митохондриальных белков [6, 7]. Следовательно, размеры митохондрий и форма крист в известной мере могут служить показателями функционального состояния и степени энергизации митохондрий. Эти данные детально проанализированы в работе Булычева [8]. Однако, как отмечает автор, не все вопросы, связанные с изменением ультраструктуры митохондрий, изучались в достаточной мере. В частности, очень слабо освещен вопрос, касающийся морфогенеза, ультраструктуры и функциональных особенностей митохондрий в ходе эмбрионального и онтогенетического развития.

В предыдущей работе [9] было показано, что в ходе эмбриогенеза кур наблюдается постепенное увеличение размеров митохондрий, выделенных из мозговой ткани, а также изменение их внутренней структуры, сопровождающееся увеличением количества и протяженности крист. Увеличение размеров митохондрий происходит при постоянстве отношения длины к ширине. Увеличение общей поверхности внутримитохондриальных мембран соответствует активации процессов дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга в течение эмбрионального развития кур. Биохимические исследования показали, что активация процессов дыхания и окислительного фосфорилирования наблюдается и в изолированных митохондриях сердца и печени кур в раз-

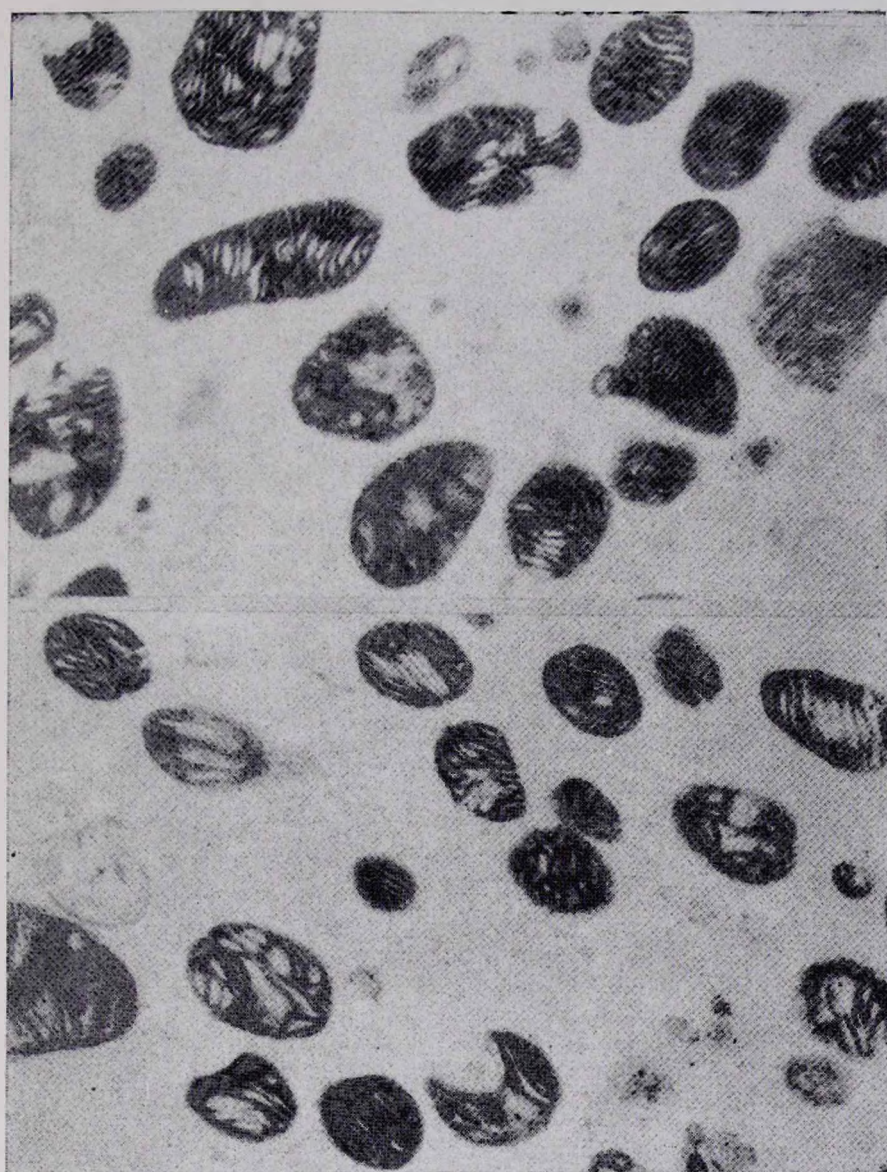


Рис. 1, 2. Изолированные митохондрии сердца 15- и 20-дневных куриных эмбрионов. Ув. 30000X.



Рис. 3, 4. Изолированные митохондрии сердца 5-дневных цыплят и взрослых кур. Ув. 30000X.

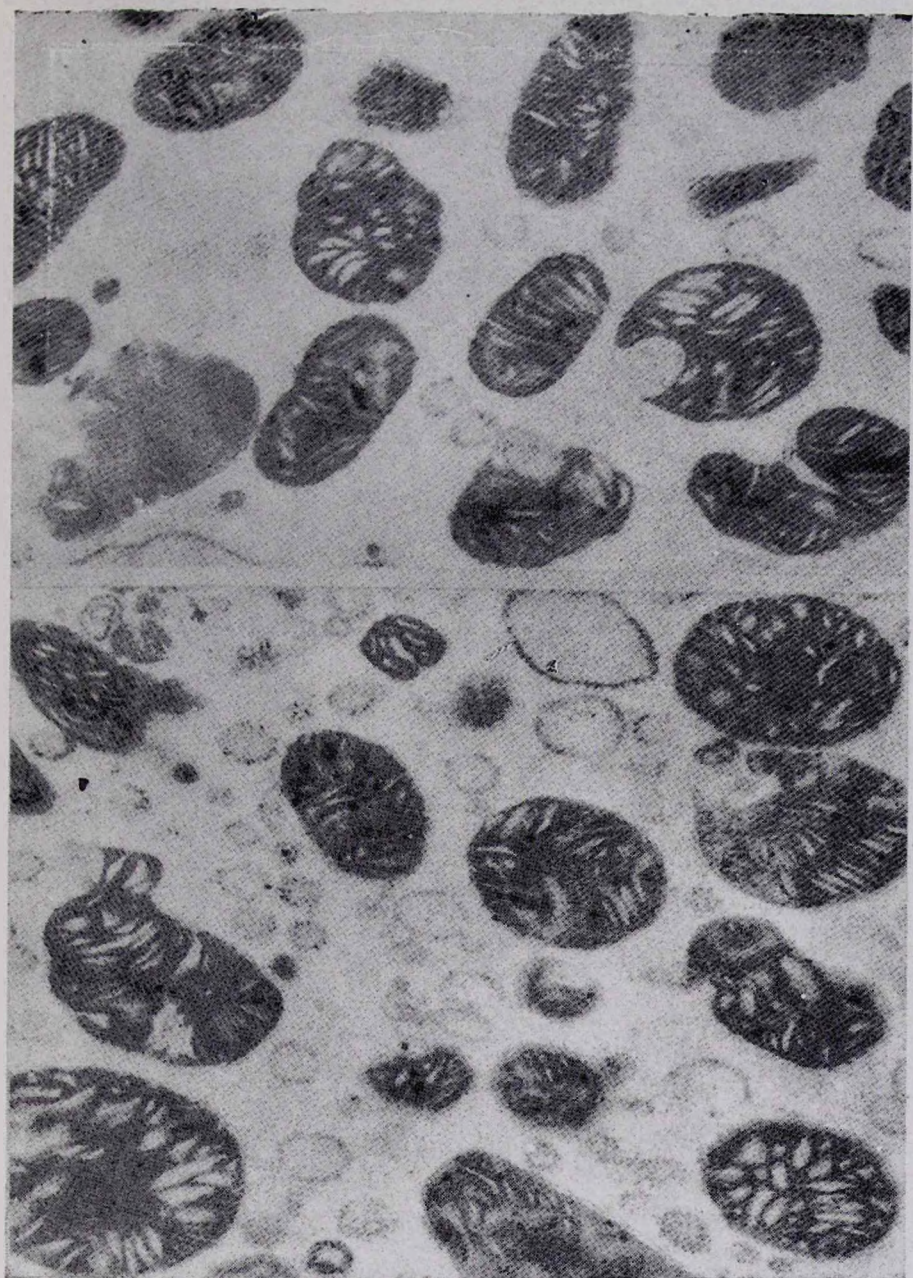


Рис. 5, 6. Митохондрии печени 15- и 20-дневных куринных эмбрионов.
Ув. 30000X.

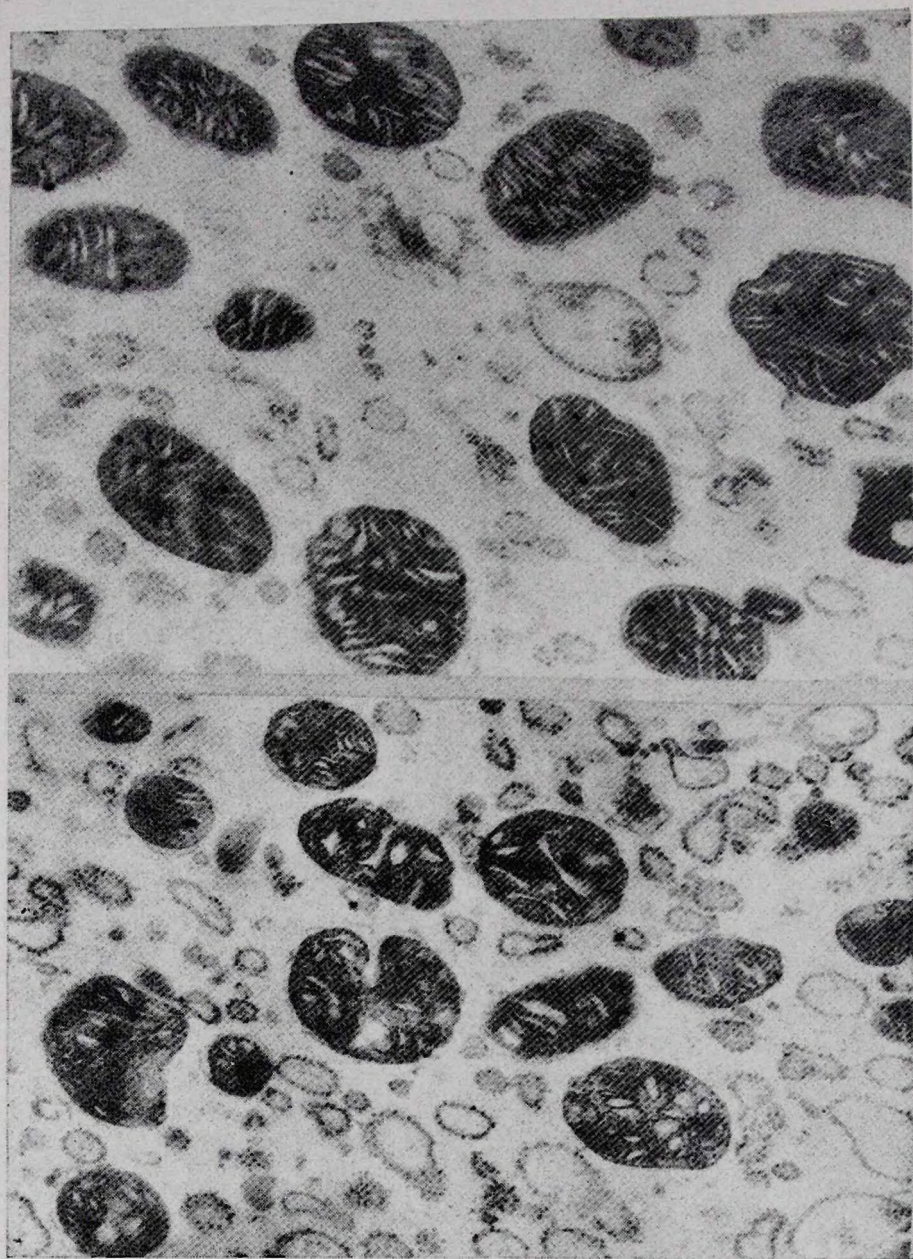


Рис. 7, 8. Митохондрии печени 5-дневных цыплят и взрослых кур
Ув. 30000Х.

личные периоды их эмбрионального и постэмбрионального развития. На основании этого в настоящей работе была предпринята попытка исследования ультроструктуры митохондрий на различных уровнях их функциональной активности.

Материал и методика. Исследовались изолированные митохондрии сердца и печени 15- и 20-дневных эмбрионов, 5-дневных цыплят и годовалых кур белой русской породы. Возраст эмбрионов определяли по срокам инкубации и корректировали по таблицам морфологического развития куриного эмбриона [10].

Выделение митохондриальной фракции печени проводили в растворе 0,25 М сахарозы—0,02 М трис-HCl буфера при 9000_g. Митохондрии сердца выделяли в растворе 0,44 М сахарозы—1 ммоль ЭДТА при 1200_g. Полученный осадок митохондрий ресуспендировали в 0,25 М растворе сахарозы—0,02 М трис-HCl буфере.

Осадки митохондриальных фракций фиксировали в 1% растворе четырехоксида осмия, забуференном 0,1 М какодилатом. Обезвоживание фиксированных препаратов производили в этаноле восходящей концентрации — от 30° до абсолютного спирта — при комнатной температуре. В каждой порции спирта объекты находились не более 20—30 мин. В качестве заливочной среды использовали аралдит. Ультратонкие срезы, полученные на ультрамикротоме LKB 8800 A, контрастировали цитратом свинца [11—13]. Препараты изучали в электронном микроскопе BS 413 A при ускоряющем напряжении 80 кВ и апертурной диафрагме 30 мк. Фотографирование производилось при увеличении 15000 х. Особое внимание уделялось форме, количеству и размерам митохондрий, содержанию крист и их расположению.

Результаты и обсуждение. Электронномикроскопическое исследование митохондрий, выделенных из сердца развивающихся куриных эмбрионов и 5-дневных цыплят, показало, что по мере развития форма их подвергается определенным изменениям. На ранних стадиях развития (15-дневные эмбрионы) митохондрии в большинстве случаев округлые, в дальнейшем они приобретают более удлиненную форму (рис. 1—3). В сердце годовалых кур они имеют более выраженную удлиненную форму (рис. 4). Расчеты показали (табл. 1), что величина отношения длины к ширине митохондрий сердца в ходе онтогенетического развития возрастает, доходя до максимума у годовалых кур.

Таблица 1

Размеры митохондрий сердца кур в различные периоды онтогенетического развития, нм

Дни развития	Длина			Ширина			Длина/ширина
	минимальная	максимальная	средняя	минимальная	максимальная	средняя	
15-й	360	1150	650	270	630	460	1,41
20-й	450	1120	680	300	600	410	1,65
5-дневные цыплята	450	1330	720	360	750	470	1,53
Годовалые куры	480	1960	920	330	1030	520	1,76

Интересно отметить, что митохондрии печени кур имеют более удлиненную форму на 15-й день эмбрионального развития. В последующие периоды развития отношение длины к ширине соответственно уменьшается, и они приобретают относительно более округлую форму (рис 5—8, табл. 2).

Результаты измерений многочисленных митохондрий в каждом сроке развития показали, что средняя длина одной митохондрии сердца 15-дневных эмбрионов составляет 650 нм (табл. 1). В последующие периоды, прогрессивно увеличиваясь, она у годовалых кур достигает 920 нм (прирост 41%).

Средняя величина ширины митохондрий подвергается аналогичным изменениям. Несколько иная картина наблюдается в развитии митохондрий печени в онтогенезе (табл. 2). По сравнению с 15-дневными эмбри-

Таблица 2

Размеры митохондрий печени кур в различные периоды онтогенетического развития, нм

Дни развития	Длина			Ширина			Длина/ширина
	минимальная	максимальная	средняя	минимальная	максимальная	средняя	
15-й	454	1605	900	300	909	577	1,55
20-й	454	1240	996	300	930	875	1,13
5-дневные цыплята	510	1390	850	330	900	600	1,41
Годовалые куры	300	1210	712	270	810	512	1,39

онами, у 20-дневных средняя длина митохондрий несколько увеличивается, затем уменьшается у 5-дневных цыплят, достигая максимума у годовалых кур (712 нм). Аналогичным изменениям подвергается также ширина митохондрий. Как видно из полученных результатов, размеры митохондрий печени уменьшаются в ходе онтогенеза.

Результаты проведенных исследований показали, что количество митохондрий в поле зрения электронного микроскопа в среднем больше в сердечной мышце 15-дневных эмбрионов (в среднем 24,7 митохондрий в поле зрения), в дальнейшем оно уменьшается до минимума у годовалых кур (15,6). В печени на 15-й день эмбрионального развития обнаруживается большое количество митохондрий (в среднем 13,0 в поле зрения электронного микроскопа), на 20-й день оно несколько уменьшается, оставаясь на том же уровне и в последующие периоды развития кур.

Как видно из приведенных данных, количество митохондрий уменьшается незначительно, поэтому их общая энергетическая активность в ткани не снижается. К этому можно добавить, что в процессе онтогенеза заметно увеличивается количество крист, и митохондрии приобрета-

Таблица 3

Изменение количества митохондрий сердца и печени кур
в различные периоды онтогенетического развития

Дни развития	Количество митохондрий	
	в сердце	в печени
15-й	24,7	13,0
20-й	19,1	11,2
5-дневные цыплята	20,5	11,8
Годовалые куры	15,6	11,8

ют более плотный матрикс. В ходе онтогенеза митохондрии сердца увеличиваются в размерах, однако количество их, по сравнению с органеллами печени, значительно сокращается.

Определенный интерес представляют данные, касающиеся изменения внутреннего строения митохондрий в онтогенезе кур. На ранних стадиях эмбрионального развития митохондрии как сердца, так и печени содержат относительно небольшое количество крист, с развитием эмбриона их содержание значительно увеличивается, особенно в печени.

Как известно, на внутренних мембранах митохондрий локализованы комплексы ферментов дыхательной цепи. Возрастание количества крист и соответственно увеличение общей поверхности внутримитохондриальных мембран может свидетельствовать о том, что по мере онтогенетического развития кур митохондрии становятся энергетически более активными.

Приведенные выше морфологические данные, касающиеся изменений изолированных митохондрий сердца и печени кур в различные периоды их онтогенетического развития, определенным образом коррелируют с полученными нами результатами биохимического изучения энергетических процессов, протекающих в митохондриях в процессе онтогенеза [14—16]. Полученные результаты позволяют заключить, что начиная с плодного периода эмбрионального развития окислительно-восстановительные процессы в сердце и печени кур интенсифицируются, достигая максимума в конце эмбриогенеза и в раннем постэмбриональном периоде.

Ա. Ա. ՍԻՄՈՆՅԱՆ, Կ. Ս. ԱԲՐԱՀԱՄՅԱՆ, Գ. Ա. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ,
Ռ. Բ. ԲԱԳԴՅԱՆ, Լ. Ա. ՇԱՏՎԵՐՈՎԱ

**ՀԱՎԵՐԻ ՍՐՏԻ ԵՎ ԼՅԱՐԴԻ ՄԻՏՈՔՈՆՈՒՐԻԱՆԵՐԻ
ՈՒԼՏՐԱԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԱՑԻՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՕՆՏՈԳԵՆԵԶՈՒՄ**

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Կատարվել է հավերի սրտից և լյարդից անջատված միտոքոնդրիանների էլեկտրոնամանրադիտակային հետազոտություն՝ սաղմնային և հետսաղմնային զարգացման տարբեր շրջաններում: Դիտվել են այդ օրգանոիդների որոշակի ձևաբանական և ներքին կառուցվածքային փոփոխություններ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Chance B., Packer L. Biochem J.*, 68, 296, 1958.
2. *Packer L. J. Biol. Chem.*, 235, 242, 1960.
3. *Packer L. J. Biol. Chem.*, 236, 214, 1961.
4. *Packer L., Golder R. J. Biol. Chem.*, 235, 1234, 1960.
5. *Packer L., Tappel A. L. J. Biol. Chem.*, 235, 525, 1960.
6. *Green D. E., Young J. H. Sci. Amer.*, 59, 92, 1971.
7. *Green D. E., Sungchul J. J. Bioenergetics*, 3, 159, 1972.
8. Булычев А. Г. В кн. Структура и функции биологических мембран. М., 1975.
9. Տիմոնյան Ա. Ա., Աբրահյան Կ. Ս., Րոստոմյան Մ. Ա., Տեպանյան Բ. Ա. Биологический журнал Армении, 24, 2, 33, 1973.
10. *Hamilton H. Little's development of the chick.*, N. Y., 1952.
11. Псликар А., Бо Ж. А. Субмикроскопические структуры клеток тканей в норме и патологии, М., 1962.
12. *Reynolds S. J. Cell. Biol.*, 17, 1, 208, 1963.
13. *Venable J. H., Coggeshall R. J. Cell. Biol.*, 25, 2, 407, 1965.
14. Տիմոնյան Ա. Ա. Докт. дисс. Ереван, 1973.
15. Տիմոնյան Ա. Ա., Геворкян Г. А., Степанян Р. А., Восканян Л. О. Биологический журнал Армении, 29, 2, 97, 1976.
16. Տիմոնյան Ա. Ա., Геворкян Г. А., Степанян Р. А., Восканян Л. О. ДАН АрмССР, 42, 1, 46, 1976.