

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАРАМЕТРОВ ФАД- И НАД-ЗАВИСИМОГО ДЫХАНИЯ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ И ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ГИПОПАРАТИРЕОЗЕ

А. С. ТЕР-МАРКОСЯН, Г. Г. АРЦРУНИ, Р. С. ОВСЕЯН

Ключевые слова: гипопаратиреоз, митохондрии, окислительное фосфорилирование.

Ранее [7] нами изучалось ФАД-зависимое окисление и сопряженное с ним фосфорилирование в митохондриях печени и головного мозга крыс при гипопаратиреозе, что было вызвано существенными функциональными нарушениями в этих органах. Однако для получения полной информации о функциональном состоянии энергонакопительной системы митохондрий необходимо было исследование также НАД-зависимого пути окисления при этой патологии.

В данном сообщении приводятся результаты сравнительного анализа состояния обоих путей митохондриального окисления у паратиреопривных животных.

Материал и методика. Опыты ставили на белых крысах-самках массой 150—200 г. Электрокоагуляцией частично удаляли околощитовидные железы. О развитии паратиреоидной недостаточности судили по понижению содержания кальция в сыворотке крови, определяемого общепринятым спектрофотометрическим методом.

Животных забивали через 5, 12 и 30 дней после операции. Извлекали печень и головной мозг, из которых методом дифференциального центрифугирования [6] изолировали митохондрии. Дыхательную и фосфорилирующую активности митохондрий изучали полярографическим методом [10] на полярографе I.P-7 при помощи модифицированной измерительной ячейки с мембранными электродами Кларка [9] при 26°C.

Контролем служили митохондрии, выделенные из печени и головного мозга ложнооперированных крыс.

Среда инкубации содержала для митохондрий печени (М): 0,25—сахарозы, 0,1—KCl, 0,1— KH_2PO_4 , 0,5— MgSO_4 (pH 7,4), а для митохондрий мозга 0,29—сахарозы, 0,01—трис-HCl, 0,0002—ЭДТА, 0,01—KCl и 0,05— KH_2PO_4 (pH 7,4). В качестве субстрата окисления использовали сукцинат и изоцитрат.

Измерили скорости дыхания «покоя» (V_2) и активного поглощения кислорода (V_3) в микроатомах O_2 в минуту на 1 мг белка, рассчитывали время фосфорилирования (Δt) в секундах, отношение утилизированного АДФ (в микромолях) к поглощенному кислороду (в микроатомах)—АДФ/О.

Количество белка в пробах определяли методом Итзаки [11].

Результаты и обсуждение. Результаты исследования приведены в таблице и на рисунке. Как следует из таблицы, сдвиги в дыхательной активности митохондрий изученных тканей крыс с гипопаратиреозом при окислении сукцината и изоцитрата неодинаковы и более четко выражены в первом случае. Окисление по ФАД-зависимому пути характеризуется общей активацией с максимумом изменений в митохондриях печени на 5-й день после операции и мозга—на 12-й день. При исполь-

Т а б л и ц а. Дыхание митохондрий печени и головного мозга и содержание кальция в сыворотке крови крыс в различные сроки после удаления околощитовидных желез

Объект исследования		Субстрат окисления	Контроль	Время после операции, дни			
				5	12	30	
V ₂	микрол на 1 мин на 1 мг белка	митохондрии печени	сукцинат	0.056±0.0024 n=9	0.070±0.0027 n=7, t=4.0	0.068±0.0026 n=7, t=3.43	0.060±0.0024 n=7, t=1.1
			изоцитрат	0.022±0.0012 n=6	0.020±0.0024 n=6, t=0.83	0.022±0.0010 n=7, t=0.00	0.026±0.0029 n=6, t=1.82
		митохондрии мозга	сукцинат	0.018±0.001 n=9	0.016±0.0004 n=7, t=1.10	0.015±0.0003 n=7, t=2.10	0.015±0.0006 n=7, t=2.00
			изоцитрат	0.023±0.0023 n=6	0.013±0.0014 n=6, t=3.33	0.012±0.0011 n=6, t=3.93	0.020±0.0060 n=6, t=0.63
V ₁	микрол на 1 мин на 1 мг белка	митохондрии печени	сукцинат	0.144±0.0072 n=5	0.220±0.0128 n=7, t=5.42	0.183±0.0036 n=7, t=4.85	0.148±0.0092 n=7, t=0.34
			изоцитрат	0.052±0.0040 n=5	0.040±0.0028 n=6, t=2.80	0.030±0.0040 n=7, t=2.32	0.044±0.0030 n=5, t=1.60
		митохондрии мозга	сукцинат	0.032±0.0071 n=8	0.038±0.0020 n=7, t=0.86	0.051±0.0020 n=7, t=2.60	0.036±0.0030 n=7, t=0.53
			изоцитрат	0.034±0.0032 n=6	0.031±0.0028 n=6, t=3.00	0.016±0.0021 n=6, t=7.50	0.045±0.0032 n=6, t=0.50
Ca, мМ	Сыворотка крови		2.05±0.04 n=8	1.10±0.03 n=7, t=22.35	1.31±0.03 n=7, t=17.22	1.77±0.03 n=7, t=5.78	

зовании же изоцитрата в качестве субстрата окисления имеет место подавление дыхания митохондрий печени и мозга. Причем в отличие от сукцинат-зависимого дыхания сдвиги в скорости окисления изоцитрата в митохондриях мозга в этом случае проявляются как на 5-й, так и 12-й день после операции. К 30-му дню происходит восстановление параметров ФАД- и НАД-зависимого дыхания митохондрий обеих тканей.

Сравнительно близкие по характеру сдвиги выявлены при изучении эффективности фосфорилирования митохондрий, сопряженного с окислением сукцината и изоцитрата. Они выражаются в уменьшении коэффициента АДФ/О (рис.). Этого нельзя сказать в отношении времени фосфорилирования, которое в основном сокращалось при сукцинат-зависимом окислении и, наоборот, увеличивалось при окислении изоцитрата.

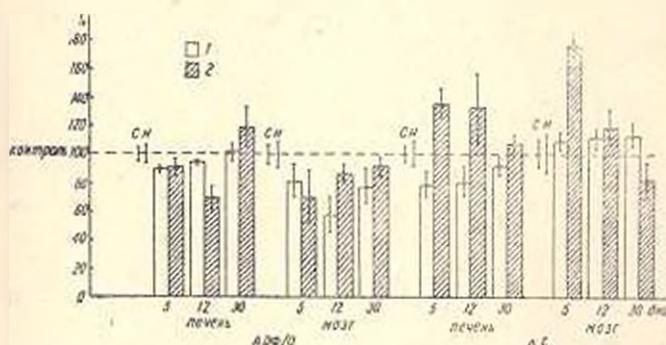


Рис. Показатели окислительного фосфорилирования (в процентах к контролю) митохондрий печени и головного мозга крыс в различные сроки после удаления околощитовидных желез. 1—сукцинат, 2—изоцитрат.

Таким образом, при гипопаратиреозе происходит активация ФАД-зависимого и подавление НАД-зависимого дыхания митохондрий печени и мозга крыс. Интересно отметить, что подавление НАД-зависимого дыхания митохондрий имеет место и при других формах судорожной активности [12], являющейся основным характерным признаком недостаточности околощитовидных желез.

Разнонаправленный характер изменения скоростей окисления ФАД- и НАД-зависимых субстратов может быть результатом гипоксии, наблюдаемой при гипопаратиреозе [8]. Возможность такого допущения основывается на исследованиях Кондрашовой [1, 2, 5] и Лукьяновой [3, 4], которыми установлено, что сукцинатная фракция дыхания является наиболее чувствительной даже при небольших изменениях физиологического состояния и что в гипоксических условиях дыхание переключается на использование янтарной кислоты. Окисление же НАД-зависимых субстратов митохондриями затрудняется по кинетическим причинам. По-видимому, активация окисления сукцината при гипопаратиреозе околощитовидных желез является компенсаторно-приспособительной реакцией дыхательной цепи, направленной на поддержание энергетической функции митохондрий в случае частичного блока первого пункта фосфорилирования при ограниченном НАД-зависимом окислении.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Кондрашова М. И. Митохондрии. Молекулярные механизмы ферментативных реакций. 169, М., 1972.
2. Кондрашова М. И., Масвакский Е. И., Бабаян Г. В. и др. Митохондрии. Биохимия и ультраструктура. 112, М., 1973.
3. Лукьянова Л. Д. Биохимия гипоксии. 22, Горький, 1975.
4. Лукьянова Л. Д., Балмуханов Б. С., Уголев А. Т. Кислородозависимые процессы в клетке и ее функциональное состояние. М., 1982.
5. Масвакский Е. И., Кондрашова М. И. Регуляция энергетического обмена и физиологическое состояние. 24, Пушкино, 1978.
6. Мосолова И. М., Горская Н. А., Шольц К. Ф., Котельникова А. В. Методы современной биохимии. 52, М., 1975.
7. Овсепян Р. С., Тер-Маркосян А. С., Худавердян Д. Н. Проблемы эндокринологии. 27, 75, 1981.
8. Худавердян Д. Н., Арируни Г. Г. Журн. экспер. и клинич. медицины. 18, 36, 1978.
9. Шольц К. Ф., Островский Д. Н. Методы современной биохимии. 52, М., 1975.
10. Estabrook R. W. Meth. Enzymol., 10, 41, 1967.
11. Itzhaki R., Gill G. Analit. Biochem., 9, 401, 1964.
12. Lotman E., La Manna J. C., Cordingley G. Brain Res., 68, 15, 1975.

Ереванский государственный медицинский институт, ИЦИЛ Поступило 6.III 1985 г.

УДК 612.35.014.22:576.315.42

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ХРОМАТИНЕ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ЕГО АКТИВАЦИИ

А. О. ВАРДЕВАНЯН, С. Г. ТИРАЦУЯН, П. О. ВАРДЕВАНЯН,
Г. А. ПАНОСЯН

Ключевые слова: гидрокортизон, хроматин.

Повышение матричной активности хроматина при стимулировании гидрокортизоном синтеза РНК в ядрах печени крыс сопровождается активацией функции эухроматина [4]. Фракционирование хроматина на транскрипционно активный и неактивный—один из надежных подходов в изучении экспрессии генов эукариот. При этом применение метода должно как можно меньше влиять на структуру хроматина.

Целью настоящей работы являлось изучение изменений в активном хроматине под действием гидрокортизона при ограниченном гидролизе хроматина микрококковой нуклеазой.

Материал и методика. Использовались белые беспородные крысы массой 100—150 г. Введение гидрокортизона, выделение ядер и хроматина из клеток печени крыс проводили как описано ранее [1]. Расщепление хроматина микрококковой нуклеазой осуществляли по методу Георгиевой и др. [2], а дальнейшее фракционирование в активный (S_2) и неактивный участки — по Готтесфельду [5]. Гетальный хроматин в фракции S_2 плавили в термостатируемых ячейках спектрофотометра Unicam SP 8-100. Во всех экспериментах время обработки ферментом составляло 2 мин.

Результаты и обсуждение. Достоверность получения активного хроматина при обработке микрококковой нуклеазой была проверена