

УДК 616.447—089.87 : 616.36

А. С. ТЕР-МАРКОСЯН, Г. Г. АРЦРУНИ

ДЫХАНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОПАРАТИРЕОЗЕ

Исследовано дыхание и фосфорилирование митохондрий печени крыс в динамике после частичного удаления околощитовидных желез. Показано, что сдвиги в параметрах дыхания и фосфорилирования митохондрий наблюдаются лишь в ранние сроки после операции.

Обсуждается роль гипоксии и низкой концентрации Ca^{++} , возникающих при гипофункции околощитовидных желез, в механизме наблюдавшихся изменений функционального состояния митохондрий печени паратиреоидэктомированных крыс.

В предыдущих наших работах [6, 7] было показано, что при частичном удалении околощитовидных желез имеют место угнетение процесса снабжения тканей кислородом и уменьшение окислительно-восстановительных потенциалов ряда тканей. Эти работы говорят о нарушении окислительных процессов при экспериментальном гипопаратиреозе. Известно, что за окислительные процессы в первую очередь ответственны митохондрии. Целью данной работы явилось изучение функционального состояния митохондрий в различные сроки после удаления околощитовидных желез.

Объектом исследования служили митохондрии печени белых беспородных крыс-самцов массой 150—200 г. Выбор печени диктовался тем обстоятельством, что именно в этом органе окислительные процессы протекают наиболее интенсивно. Животные делились на две группы: контрольную и опытную. У животных опытной группы электрокоагуляцией частично удалялись околощитовидные железы. О степени развития гипопаратиреоза судили по изменению концентрации ионов кальция в сыворотке крови, определение которой производилось по общепринятой фотометрической методике.

Через 2, 5, 12 и 30 суток после удаления околощитовидных желез животные декапитировались и извлекалась печень. Митохондрии выделялись по известной методике [2, 12, 13]. Аналогичной обработке подвергались животные контрольной группы. Сразу после выделения митохондрий регистрировалось их дыхание на полярографе LP-7 (ЧССР) по общепринятой методике [11] при помощи модифицированной измерительной ячейки с мембранными электродами Кларка [8]. В ячейку за-

ливалось 2 мл среды инкубации (0,25М сахарозы; 0,1 М KCl; 0,1 М KH_2PO_4 ; 0,5 М MgSO_4 ; $\text{pH}=7,4$). Затем добавлялось 0,02 мл 1 М раствора сукцината и 0,04 мл суспензии митохондрий (митохондрии суспендировались в среде выделения из расчета 1 г исходной печеночной ткани в 0,2 мл среды) и регистрировалась скорость дыхания «покою»— V_2 . Через 60 сек добавлялось 0,02 мл 0,02 М раствора АДФ и определялась скорость активного дыхания— V_3 . После истощения АДФ регистрировалась скорость дыхания «отдыха»— V_4 . Указанные параметры выражались в мкА 0/мин/мг белка. Количество белка определялось по Лоури и равнялось 1,5—1,6 мг. Рассчитывались следующие показатели: время фосфорилирования в секундах— Δt , отношение числа мкмоль утилизированного АДФ к числу мкатомов поглощенного кислорода— $\text{АДФ}/0$, дыхательный контроль по Чансу—ДК. Концентрация Ca^{++} в сыворотке крови выражалась в мг%.

Результаты исследования представлены в табл. 1. Как следует из таблицы, начиная со вторых по пятые сутки после удаления околощитовидных желез имеет место постепенное изменение параметров дыхания и фосфорилирования митохондрий до определенного уровня, параллельно идет понижение концентрации ионов Са в сыворотке крови. Показатели дыхания и фосфорилирования принимают экстремальные значения через 5 суток после удаления околощитовидных желез. При этом наблюдается увеличение скоростей V_2 , V_3 , коэффициента ДК, уменьшение величины Δt . Затем эти параметры изменяются в обратную сторону так, что через 30 суток после операции достоверных отличий от контроля не имеется. Концентрация Ca^{++} в сыворотке крови к 30-му дню частично восстанавливается, однако не доходит до контрольного уровня.

Известно, что кальций является модулятором функционального состояния митохондрий [3]. Для выявления роли ионов Са в функционировании митохондрий печени паратиреоидэктомированных крыс была проведена серия экспериментов с в/в введением 0,05 мл 10% раствора CaCl_2 животным на пятый день после удаления околощитовидных желез и последующим исследованием дыхания и фосфорилирования митохондрий. Концентрация Ca^{++} в сыворотке крови после введения CaCl_2 составляла $8,4 \pm 0,36$ мг%. Результаты экспериментов этой серии представлены в табл. 2. Из таблицы видно, что при повышении концентрации Ca^{++} в крови паратиреоидэктомированных животных имеет место некоторое понижение величин V_2 , V_3 , ДК, увеличение времени фосфорилирования. Величина $\text{АДФ}/0$ практически не изменяется. Таким образом, полного восстановления функциональной активности митохондрий не происходит. Следовательно, наблюдаемые изменения функционального состояния митохондрий не могут быть объяснены только лишь сдвигами в концентрации Ca^{++} в крови, тем более что восстановление параметров дыхания и фосфорилирования митохондрий в поздние сроки экспериментального гипопаратиреоза не сопровождается полной нормализацией концентрации Ca^{++} (табл. 1).

Таблица 1

Дыхание и фосфорилирование митохондрий печени и содержание кальция в сыворотке крови крыс в различные сроки после удаления околощитовидных желез

Число опытов	Время после операции	V ₂	V ₃	V ₄	ДК	Δt	АДФ/О	Ca ⁺⁺
	дни	мкА 0 /мин/ мг белка				сек		мг %
8	контроль	0,056±0,0024	0,144±0,0072	0,064±0,0048	2,05±0,050	98,4±2,7	1,69±0,03	8,2±0,15
7	2	0,063±0,0024 t=2,05	0,172±0,0082 t=2,54	0,065±0,0016 t=0,20	2,44±0,079 t=2,47	89,4±1,3 t=3,10	1,63±0,04 t=1,20	7,3±0,25 t=3,10
7	5	0,070±0,0027 t=4,00	0,220±0,0128 t=5,42	0,070±0,0028 t=1,13	3,27±0,121 t=9,39	76,3±1,9 t=6,70	1,56±0,05 t=2,24	4,4±0,11 t=22,35
7	12	0,068±0,0026 t=3,43	0,183±0,0036 t=4,85	0,068±0,0008 t=0,83	2,66±0,128 t=4,78	80,4±2,4 t=5,00	1,60±0,03 t=2,14	5,1±0,11 t=17,22
6	30	0,060±0,0024 t=1,10	0,148±0,0092 t=0,34	0,068±0,0028 t=0,71	2,15±0,153 t=0,24	94,2±1,7 t=1,31	1,70±0,02 t=0,28	7,1±0,12 t=5,78

Таблица 2

Дыхание и фосфорилирование митохондрий печени и содержание кальция в сыворотке крови крыс на 5-й день паратиреоидэктомии после введения CaCl₂

Число опытов	Условия опыта	Ca ⁺⁺	V ₂	V ₃	V ₄	ДК	Δt	АДФ/О
		мг %	мкА 0 /мин/ 1 мг белка				сек	
7	Без CaCl ₂	4,4±0,11	0,070±0,0027	0,220±0,0128	0,070±0,0028	3,27±0,121	76,3±1,9	1,56±0,05
7	С CaCl ₂	8,4±0,36 t=10,53	0,058±0,0019 t=3,66	0,172±0,0083 t=3,63	0,065±0,0004 t=1,79	2,57±0,270 t=2,13	91,5±3,6 t=3,72	1,44±0,07 t=1,41

Как нами указывалось выше, удаление околожитовидных желез приводит и развитую гипоксическую гипоксию, причиной которой является уменьшение кислородсвязывающих свойств гемоглобина. В ряде работ [4, 5, 9] приводятся данные об увеличении скорости активного дыхания, повышении ДК, сокращении времени фосфорилирования АДФ при кислородной недостаточности. Полученные нами данные коррелируют с результатами, приведенными в вышеуказанных работах.

В литературе имеется несколько точек зрения по поводу ускорения дыхания митохондрий в условиях дефицита кислорода. В. В. Куприянов с соавт. [1] считают, что активация дыхания митохондрий связана с изменением конформации дыхательной цепи и образованием ее более компактной формы. По мнению других авторов [10], увеличение скорости дыхания митохондрий в условиях гипоксии есть следствие перехода неактивированной формы дыхательной цепи в активированную, регулятором которого является концентрация кислорода.

Как уже отмечалось, в поздние сроки послеоперационного периода наблюдается восстановление функциональных показателей митохондрий, что, по-видимому, связано с частичным восстановлением функции околожитовидных желез, а также большими адаптационными возможностями дыхательных ферментов [14].

Таким образом, резюмируя вышесказанное, можно констатировать факт активации дыхания митохондрий печени паратиреоидэктомизированных крыс в ранние сроки послеоперационного периода. Наблюдаемые сдвиги в параметрах функциональной активности митохондрий, по-видимому, обусловлены не одной какой-то причиной, а суммой их в целостном организме, где, вероятно, не исключена также роль гипоксии и дефицита Ca^{++} в крови. По всей видимости, недостаток кислорода, в свою очередь, в определенной мере компенсируется за счет увеличения скоростей нефосфорилирующего и фосфорилирующего окисления.

ЦНИЛ Ереванского
медицинского института

Поступила 24/І 1979 г.

Ա. Ս. ՏԵՐ-ՄԱՐԿՈՍՅԱՆ, Գ. Գ. ԱՐՄԵՐՈՒՆԻ

**ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԼՅԱՐԴԻ ՄԻՏՈՔՈՆՈՒՐԻԱՆԵՐԻ ՇՆՁԱՌՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՀԻՊՈՊԱՐԱԹԻՐԵՆՈՋԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ**

Ուսումնասիրված է սպիտակ առնետների լյարդի միտոքոնդրիաների շնչառությունը և ֆոսֆորիլացումը հիպոպարաթիրեոզի պայմաններում:

Հարվահանագեղձերի հեռացման հինգերորդ օրը նկատվում է միտոքոնդրիաների շնչառության, ֆոսֆորիլացման ցուցանիշների առավելագույն փոփոխություն, իսկ այնուհետև՝ վերջիններիս աստիճանական վերականգնում: Վիրահատության 30-րդ օրը կոնտրոլի համեմատ ոչ մի տարբերություն չի նկատվում:

RATS' LIVER MITOCHONDRIA RESPIRATION IN EXPERIMENTAL
HYPOPARATHYROSIS

Parameters of rats' liver mitochondria oxidation and phosphorylation have been studied in dynamic, after the parathyroid glands partial removal. In early periods after the operation mitochondria breathing activation was observed.

ЛИТЕРАТУРА

1. Куприянов В. В., Сакс В. А., Лузиков В. Н. Сб.: Митохондрии. М., 1974, стр. 21.
2. Маслова И. М., Горская И. А., Шольц К. Ф., Котельникова А. В. Методы современной биохимии. М., 1975.
3. Рачев Р. Р. Митохондрии и тиреоидные гормоны. Л., 1969.
4. Хватова Е. М., Шуматова Е. Н., Варыпаева И. С. Сб.: Митохондрии. М., 1977, стр. 32.
5. Хватова Е. М., Шуматова Е. Н., Миронова Г. В., Сидоркина А. Н., Ваулина В. А. Сб.: Митохондрии. М., 1976.
6. Худавердян Д. Н., Арцруни Г. Г. Ж. exper. и клин. мед. АН Арм.ССР, 1978, 13, 1, стр. 36.
7. Худавердян Д. Н., Тер-Маркосян А. С., Арцруни Г. Г. Ж. exper. и клин. мед. АН Арм.ССР, 1977, 17, 4, стр. 52.
8. Шольц К. Ф., Остревский Д. Н. Методы современной биохимии. М., 1975.
9. Atkinson D. E. Biochemistry, 1968, 7, 4030.
10. Chance B., Pring M. XIX Kolloq. Ges. Biol. Chem. Mosbach/Baden, Springer-Verl, 1968, 5, 102.
11. Estabrook R. W. Meth. in Enzymol., 1967, 10, 41.
12. Jonson P., Lardy H. Meth. in Enzymol., 1967, 10, 94.
13. Hogeboom G. H., Schneider W. S., Pallade G. E. J. Biol. Chem., 1948, 172, 616.
14. Wainio W. JUB Sympos. Ser. 1967, 31, 447.