

М. Н. КОНДРАШОВА, Н. Р. ЧАГОВЕЦ

ЯНТАРНАЯ КИСЛОТА В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ
ПРИ ИНТЕНСИВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ И В ПЕРИОДЕ ОТДЫХА

(Представлено академиком Г. М. Франком 20 III 1970)

Переход от покоя к интенсивной мышечной деятельности и резкое усиление расходования энергии мышечными клетками на функцию сопровождается, как известно, дефицитом кислорода, возникающим вследствие «отставания» возможностей систем внешнего дыхания и кровообращения от резко возросших потребностей тканевого дыхания. При этом дыхательная цепь митохондрий мышечных клеток, находящихся в активном, низкоэнергетическом состоянии, не успевает освобождаться от водорода и электронов, что приводит к увеличению восстановленности дыхательных переносчиков и ограничению окисления в цикле Кребса.

В связи с этим в энергетическом обеспечении мышечной деятельности высокой интенсивности, наряду с фосфорилированием в дыхательной цепи, значительный удельный вес приобретают и механизмы анаэробного ресинтеза АТФ — переэстерификация с креатинфосфата и гликолиз.

Теоретически обоснована возможность цепи реакций, при протекании которых цикл Кребса, даже в условиях недостатка кислорода, может продолжать поставлять богатые энергией соединения (¹, ²). При этом из продуктов, усиленно образующихся во время работы (пирувата, CO_2 и НАД- H_2), осуществляется восстановительный синтез янтарной кислоты, сопровождающийся образованием АТФ. Фактически при этом происходит обращение цикла Кребса от стадии щавелевоуксусной кислоты (ЩУК) (усиленно образующейся путем карбоксилирования пировиноградной кислоты) через яблочную и фумаровую кислоты до янтарной. Помимо выработки АТФ, этот процесс сопровождается окислением НАД- H_2 , накапливающегося в условиях рабочей гипоксии, регенерацией НАД и поддержанием окислительных превращений в цикле трикарбоновых кислот. Вместе с тем усиление тканевого дыхания в связи с разворачиванием потенциальных возможностей снабжения работающей мышцы кислородом и вовлечение жиров в энергетическое обеспечение деятельности по мере ее продолжения создает предпосылки для ускоренного образования сукцината через щавелевоянтарную кислоту (¹) или глуксалазный цикл (³). При этом дальнейшие ее превращения в состоянии энергетического дефицита заторможены ЩУК (⁴).

Возникающий во время работы избыток янтарной кислоты может играть важную роль в энергетическом обеспечении процессов реституции в периоде отдыха (¹, ², ⁵). В отличие от сукцината энергетическая ценность молочной кислоты, накапливающейся при интенсивной деятельности, невелика (⁶).

С целью экспериментальной проверки изложенных выше предположений было исследовано содержание янтарной кислоты в мышцах при интенсивной деятельности и в периоде отдыха в сопоставлении с динамикой изменений креатинфосфата и молочной кислоты.

Опыты проводили на взрослых белых крысах — самцах линии Вистар весом 180—200 г. Животных исследовали в состоянии физиологического покоя, после кратковременной интенсивной работы (15-минутное плава-

ние при температуре 30—32° с частотой движений конечностей около 120 в мин.) и через 30 и 60 мин. отдыха при согревании. После мгновенного замораживания целого животного в жидком азоте в мышцах задних конечностей определяли содержание креатинфосфата (7), молочной кислоты (8) и янтарной кислоты — энзиматическим методом, разработанным в Институте биологической физики АН СССР. Для определения янтарной кислоты порошок мышечной ткани экстрагировали хлорной кислотой, нейтрализовали, удаляли соли и сушили из замороженного состояния. В конденсированном экстракте проводили определение по изменению поглощения феррицианида, регистрируемого на дифференциальном спектрофотометре при 420 мμ. В обоих кюветах содержался цианид и ротенон, в кювете сравнения — малонат. В качестве энзиматического препарата сукцинатдегидрогеназы использовали суспензию детергированных тритоном X-100 митохондрий печени крысы. Полученные результаты приведены в табл. 1.

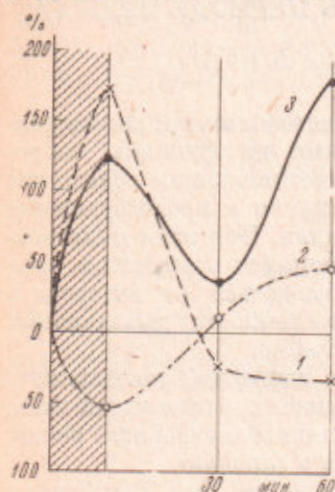


Рис. 1. Изменение содержания молочной кислоты (1), креатинфосфата (2) и янтарной кислоты (3) в мышцах крыс после плавания (заштрихованный столбик) и во время отдыха 30 и 60 мин.

абсолютное содержание янтарной кислоты в 10—15 раз ниже, чем молочной кислоты. Относительная же величина изменений обеих кислот в процентах к исходному уровню примерно одинакова (максимальное отклонение приближается к 200%), что значительно больше, чем колебания уровня креатинфосфата (около 50% в одном направлении). Относительные изменения названных метаболитов представлены на рис. 1.

Таблица 1

Содержание креатинфосфата, молочной и янтарной кислот в скелетных мышцах при работе и отдыхе (μмоли на грамм ткани)

Условия опыта	Креатинфосфат	Молочная кислота	Янтарная кислота
Покой	20,30 ± 0,20	5,56 ± 0,16	0,39 ± 0,023
15-мин. плавание	8,10 ± 0,24	15,16 ± 0,56	0,87 ± 0,045
30-мин. отдых	22,31 ± 0,80	4,04 ± 0,12	0,53 ± 0,023
60-мин. отдых	28,89 ± 0,19	3,60 ± 0,15	1,10 ± 0,049

Интенсивное расходование креатинфосфата и резкое увеличение содержания молочной кислоты, наблюдающееся под влиянием 15-минутного плавания, указывает на высокую степень мобилизации анаэробных путей ресинтеза АТФ, свидетельствуя о том, что выполнение исследованной на-

грузки сопровождается рабочей гипоксией. В связи с этим представляется весьма вероятным, что обнаруженное увеличение концентрации янтарной кислоты обусловлено реализацией в клетке еще одного, не учитывавшегося ранее пути анаэробной выработки АТФ митохондриями — пути восстановительного синтеза янтарной кислоты на дикарбоновом участке, начиная от ЩУК⁽¹⁾. Кроме того, как указывалось выше, образование янтарной кислоты может происходить и в результате окислительных превращений^(1, 3). Независимо от того, каким путем происходит образование янтарной кислоты, ее накопление после работы согласуется с высказанным ранее предположением, согласно которому период активности создает всплеск концентрации сукцината⁽²⁾. Эти результаты согласуются также с обнаруженным накоплением янтарной кислоты в изолированных митохондриях после их активации кальцием⁽¹⁰⁾. Описанные в настоящей работе соотношения изменений содержания янтарной и молочной кислот, а также фосфокреатина согласуются с предположением, согласно которому янтарная кислота играет важную роль в обеспечении энергией процессов реституции в период отдыха. Из рис. 1 видно, что избыток янтарной кислоты, возникающий во время работы, начинает расходоваться после ее прекращения. Этот расход наиболее интенсивен в течение первого получаса отдыха, когда особенно усилены процессы ресинтеза креатинфосфата и устранения молочной кислоты. Во вторые полчаса отдыха после сверхвосстановления содержания креатинфосфата и снижения молочной кислоты ниже исходного уровня происходит некоторая стабилизация их содержания. Этому соответствует второй, более значительный подъем содержания янтарной кислоты. Можно думать, что этот подъем обусловлен прекращением расхода янтарной кислоты на обеспечение восстановительных процессов, в то время как ее усиленный приток еще не полностью прекратился (например, за счет неметаболизированных жирных кислот, мобилизация которых из жировых депо, начавшаяся во время работы, продолжается и после ее прекращения⁽¹¹⁾). Известно, что волнообразное течение восстановительного периода отмечается по разным физиологическим и биохимическим показателям. В частности, такой характер имеет кинетика зависящего от янтарной кислоты восстановления НАД в изолированных митохондриях после активации их АДФ⁽¹²⁾.

Таким образом, динамика изменений сукцината в восстановительном периоде отличается от таковой молочной кислоты и креатинфосфата, причем по их соотношению можно заключить, что приближение содержания креатинфосфата, а также гликогена⁽⁶⁾ к исходному уровню происходит за счет использования янтарной кислоты. Можно предполагать также, что последующее окисление избытка сукцината дает дополнительный резерв энергии для восстановления и суперкомпенсации содержания мышечных белков, наступающих позднее, чем сверхвосстановление источников энергии^(9, 13).

Изложенная точка зрения о роли сукцината в процессах биохимической реституции обосновывает возможное применение янтарной кислоты, а также связанной с ее метаболизмом глютаминовой кислоты для ускорения восстановительного периода после интенсивной мышечной деятельности⁽⁵⁾.

Институт биологической физики
Академии наук СССР
Пушкино-на-Оке

Поступило
18 II 1970

Ленинградский научно-исследовательский
институт физической культуры

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ М. Н. Кондрашова, В сборн. Свойства макромолекул и макромолекулярных структур, «Наука», 1969, стр. 135. ² М. Н. Кондрашова, В кн. Митохондрии, «Наука», 1968, стр. 122. ³ М. Н. Кондрашова, М. А. Родионова, Тез.

докл. на III Всесоюзн. съезде биохимиков в Ташкенте, Ташкент, 1969, стр. 241.
⁴ A. Wojtczak, J. Chappell, цит. по М. Н. Кондрашовой, В кн. Митохондрии, «Наука», 1967, стр. 137. ⁵ М. Н. Кондрашова, Предпосылки к проверке предположения о специфической роли янтарной кислоты в обеспечении энергией восстановительных процессов после рабочего акта. ВИНТИ, Пушкино, 1969, Деп. № 451.
⁶ В. П. Скулачев, Аккумуляция энергии в клетке, «Наука», 1969. ⁷ А. М. Алексеева, Биохимия, 21, 243 (1958). ⁸ J. V. Barker, W. H. Summerson, J. Biol. Chem., 138, 535 (1941). ⁹ Н. Р. Чаговец, Укр. биохимич. журн., 29, 450 (1957). ¹⁰ М. Н. Кондрашова, А. Д. Виноградов, Г. В. Бабаян, В сборн. тр. конфер. в Паланге: Транспорт катионов через биологические мембраны, Изд. АН СССР, 1970. ¹¹ Л. Г. Лешкевич, Матер. X Всесоюзн. научн. конфер. по физиологии, морфологии, биомеханике и биохимии мышечной деятельности, 2, М., 1968, стр. 103. ¹² А. Д. Виноградов, М. Н. Кондрашова, В сборн. Колебательные процессы в биохимических и химических системах. «Наука», 1967, стр. 122.
¹³ Н. Р. Чаговец, Вopr. мед. хим., 8, 599 (1962).