

Ф. З. МЕЕРСОН, В. Д. ПОМОЙНИЦКИЙ, Б. А. ЯМПОЛЬСКАЯ

**РОЛЬ БИОГЕНЕЗА МИТОХОНДРИЙ В АДАПТАЦИИ ОРГАНИЗМА
К ВЫСОТНОЙ ГИПОКСИИ**

(Представлено академиком В. В. Париным 4 VI 1971)

При острой гипоксии недостаток кислорода лимитирует транспорт электронов дыхательной цепи (8) и тем самым ограничивает образование АТФ митохондриями. Существо адаптации состоит в том, что организм каким-то образом расширяет это лимитирующее звено: вопреки гипоксии восстанавливается образование АТФ на единицу массы ткани. В результате восстанавливается поведенческая и трудовая активность организма.

Известно, что эта адаптация обеспечивается не только увеличением мощности систем внешнего дыхания и кровообращения, транспортирующих кислород из внешней среды к митохондриям. Важным фактором адаптации являются также изменения, развивающиеся на уровне клеток: увеличение способности ткани утилизировать кислород при низком его содержании в крови (11) и доказанное исследованиями последних лет увеличение мощности системы митохондрий на единицу массы тканей (13).

Поскольку известно, что развитие этих адаптационных изменений в тканях сопровождается активацией синтеза нуклеиновых кислот и белков в мозгу (4), сердце (3), системе кровообращения и других органах, правомерным является предположение, что при адаптации к гипоксии происходит активация биогенеза митохондрий, которая становится основой увеличения их количества в тканях.

Для проверки этого предположения мы исследовали динамику синтеза ДНК, РНК и белка в митохондриях и ядрах сердечной мышцы у крыс при адаптации к прерывистому действию высотной гипоксии. Адаптацию вызывали путем помещения животных в барокамеру на «высоту» 7000 м ежедневно на 6 час. в течение 40 дней.

Для изучения биосинтеза использовали следующие изотопы: ^{3}H -тимидин (4 С/ммоль); ^{14}C -оротовая кислота (12,5 мС/ммоль), аминокислоты: лизин- ^{14}C , аланин- ^{14}C , метиопин- ^{14}C (по 100 мС/г). Изотопы вводили интраперitoneально: ортовую кислоту и аминокислоты при экспозиции 3 часа; тимидин при экспозиции 4 часа. Ядра из сердечной мышцы выделяли по методу (15) с некоторыми модификациями с использованием ультрацентрифуги Spinko L-2. Митохондрии из сердечной и икроножной мышц выделяли по методу Шнейдер. Перед выделением ДНК и РНК митохондрии обрабатывали ДНКазой и РНКазой для удаления адсорбированных на мембранах митохондрий нуклеиновых кислот из ядер и цитоплазмы. Пул предшественников РНК и ДНК в митохондриях определяли спектрофотометрически и количество рассчитывали по Спирину. Аминокислотный пул определяли ингибиторным методом. РНК и ДНК в ядрах и митохондриях разделяли по методу Шмидт и Таңгаузер, количественно нуклеиновые кислоты определяли цветными реакциями на рибозу и дезоксирибозу: РНК — орциновым методом, ДНК — по Бартону, белок по (6). Радиоактивность пула предшественников и выделенных препаратов РНК, ДНК и белка митохондрий подсчитывали на французском спиритильционном счетчике LS-40 с программой на гашение радиоактивности в каждой пробе. Результаты выражали следующим образом: удельную активность пула предшественников РНК и ДНК в импульсах в 1 мин. на 100 мг, белок и пул аминокислот — в импульсах в 1 мин. на 1 мг белка.

Удельная активность пула предшественников для ДНК и белка при адаптации к высотной гипоксии и при гиперфункции достоверно не отли-

чалась от контроля, а для РНК была снижена на 20—30%, что могло зависеть от увеличения пула немеченого уридина.

Рис. 1 *a, б* отражает динамику синтеза и концентрации ДНК в митохондриях правого и левого желудочков сердца. Можно констатировать, что оцениваемая по включению меченого H^3 -тимидина интенсивность синтеза

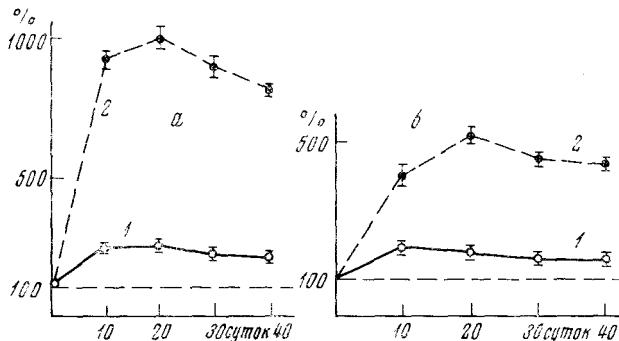


Рис. 1. Динамика интенсивности включения H^3 -тимидина в ДНК митохондрий и концентрации митохондриальной ДНК в миокарде правого (*а*) и левого (*б*) желудочков крыс при адаптации к высотной гипоксии. 1 — концентрация ДНК, 2 — синтез ДНК

митохондриальной ДНК возросла к десятым суткам адаптации для правого желудочка в 9 раз, а для левого — в 4 раза. Это многократное увеличение биосинтеза ДНК сохранилось без больших изменений в течение последующих 30 суток адаптации. В результате увеличения биосинтеза концентрация ДНК в митохондриях правого желудочка возросла к десятым суткам в 2,5 раза, а для левого на 90%; в течение последующего периода адаптации концентрация ДНК сохранялась на этом уровне.

Оценивая эти данные, следует иметь в виду, что в ядрах мышечных клеток миокарда не происходит биосинтеза ДНК при адаптации к гипоксии; вместе с тем митохондрии, которые были выделены нами из миокарда, являются в громадном своем большинстве митохондриями мышечных клеток. Следовательно, в митохондриях мышечных клеток сердца при адаптации к высотной гипоксии действительно наблюдается многократная избирательная активация биосинтеза ДНК и значительное увеличение матриц митохондриальной ДНК.

Рис. 2. Динамика концентрации ДНК и включения C^{14} -оротовой кислоты в РНК митохондрий миокарда правого желудочка крыс при адаптации к высотной гипоксии. 1 — концентрация ДНК, 2 — синтез РНК

Независимо от того, как распределяется увеличенное количество ДНК в митохондриях, оно означает увеличение суммарной мощности митохондриальных геномов и опосредованно, через систему митохондриальных РНК, может играть важную роль в активации синтеза белков митохондрий и увеличении их мощности в мышечных клетках сердца.

Рис. 2 показывает, что в миокарде правого желудочка, действительно, наблюдается более чем двукратное увеличение включения меченого оротата в РНК митохондрий и динамика оцениваемого таким образом биосинтеза митохондриальной РНК почти полностью совпадает с динамикой концентрации ДНК. Это совпадение весьма существенно. В совокупности с данными, что в митохондриях нет гистонов (1) и аппарат регуляции биосинтеза РНК на матрицах ДНК относительно прост, оно позволяет думать, что интенсивность биосинтеза РНК в митохондриях определяется количеством наличных генетических матриц. Соответственно, при адаптации к гипоксии интенсивность биосинтеза РНК растет благодаря тому, что таких матриц становится больше.

В ядрах миокарда при адаптации к гипоксии наблюдается еще большая активация синтеза РНК, чем в митохондриях.

Рис. 3 позволяет сопоставить эту динамику активации синтеза РНК, т. е. транскрипции, в ядерном и митохондриальном геномах миокардиальных клеток правого желудочка сердца.

Из этого сопоставления вытекает, что у контрольных животных интенсивность обновления РНК в ядрах по крайней мере вдвое выше, чем в митохондриях. Через 20 суток после начала адаптации активация транскрипции в ядрах и митохондриях достигает максимума, и при этом в ядрах она увеличивается в 3,2 раза, а в митохондриях в 2,3 раза; на более поздних сроках адаптации активация синтеза РНК на обоих геномах выражена в не-

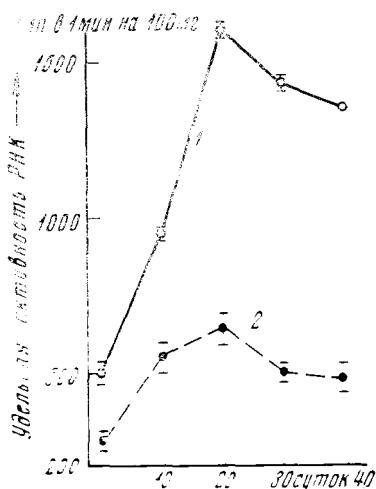


Рис. 3. Динамика включения C^{14} -органической кислоты в РНК ядер и митохондрий миокарда правого желудочка крысы при адаптации к высотной гипоксии. 1 — ядра, 2 — митохондрии

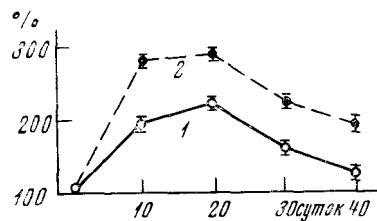


Рис. 4. Динамика интенсивности включения смеси меченых аминокислот (лизин- C^{14} , аланин- C^{14} , метионин- C^{14}) в белок митохондрий и ядер миокарда правого желудочка крысы при адаптации к высотной гипоксии. 1 — ядра, 2 — митохондрии

сколько меньшей степени. Такое преобладание синтеза РНК в ядрах по сравнению с митохондриями хорошо согласуется с известным представлением, что на основе информации, заключенной в митохондриальных ДНК и РНК, синтезируется только структурный белок митохондрий. Все остальные клеточные белки и, в частности, ферменты — переносчики дыхательной цепи митохондрий — по современным представлениям синтезируются на основе информации ядерного генома в цитоплазматических полисомах, а затем встраиваются в митохондрии. Иными словами, активация синтеза всего комплекса митохондриальных белков и биогенеза митохондрий может развиваться только как результат одновременной и координированной активации ядерного и митохондриального геномов клетки. Под этим углом зрения следует оценивать представленную на рис. 4 динамику синтеза белка в митохондриях и ядрах в процессе адаптации к гипоксии.

Кривые показывают, что интенсивность биосинтеза митохондриальных белков в правом желудочке к 10 суткам адаптации увеличена в 3 раза, а в дальнейшем несколько снижается. Существенно, что по степени эта активация в 2,3 раза больше, чем активация биосинтеза суммарного белка миокарда (³). Этот факт является выражением преимущественного биосинтеза именно митохондриальных белков в процессе адаптации к гипоксии, причем меченные белки синтезируются в самих митохондриях, а также поступают туда посредством импорта из цитоплазматических полисом.

На рис. 4 видно, что в ядрах при адаптации к гипоксии также наблюдается значительная активация биосинтеза белка; возможно, что это обусловлено увеличением биосинтеза гистонов или кислых белков хромосом, которое, как известно, наблюдается при интенсивной транскрипции.

В целом результаты эксперимента определенно свидетельствуют о том, что при адаптации к гипоксии действительно происходит избирательная активация биосинтеза ДНК и накопление генетических матриц в митохондриях мышечных клеток сердца при одновременной активации там синтеза РНК и белка. Итогом такой активации может явиться то увеличение мощности системы митохондрий, которое было продемонстрировано в последние годы многими исследователями.

Для понимания механизма активации биогенеза митохондрий при гипоксии следует иметь в виду, что эта реакция возникает не только в ответ на гипоксию, но также в ответ на любой фактор, который вызывает в клетках дефицит макроэргов, повышение потенциала фосфорилирования и, как следствие — мобилизация гликолиза и накопления лактата.

Так, при интенсивных и длительных нагрузках показано, что ресинтез АТФ в сердце (²), мышцах (¹²), нейронах (¹⁰) отстает от ее расхода на функцию. Возникшее по этой причине падение концентрации макроэргов закономерно сопровождается общей активацией синтеза нуклеиновых кислот и белков с первоочередной активацией биогенеза митохондрий (⁷).

Холод, вызывающий, как известно, разобщение окисления и фосфорилирования, приводит к значительному падению концентрации макроэргов (⁵) и одновременно к развитию активации синтеза нуклеиновых кислот и белков с преимущественным увеличением биогенеза митохондрий (⁹).

Таким образом, при действии на организм факторов внешней среды: интенсивных нагрузок, гипоксии и холода жизнедеятельность лимитируется одним и тем же звеном — дефицитом АТФ, и во всех этих трех ситуациях возникает активация биогенеза митохондрий, которая играет важную роль в устранении такого дефицита.

В связи с этим правомерно предположение, что именно дефицит макроэргов, рост потенциала фосфорилирования и сопутствующие им сдвиги являются сигналом, активирующим генетический аппарат клетки. Оставляя пока за рамками обсуждения интимный механизм, за счет которого дефицит энергии активирует генетический аппарат, следует подчеркнуть положение, которое уже теперь представляется достаточно обоснованным. Положение это состоит в том, что при действии на организм гипоксии, интенсивных нагрузок и холода основным звеном, лимитирующим жизнедеятельность, является органическая способность митохондрий образовывать АТФ. В соответствии с этим развитие адаптации к данным факторам среды обеспечивается одним общим приемом — активацией биогенеза митохондрий и увеличением их молярной мощности на единицу массы клетки. Эта реакция генетического аппарата клетки, возникающая в ответ на дефицит энергии, составляет общий фундаментальный механизм долговременной адаптации организма к внешней среде.

Институт нормальной
и патологической физиологии
Академии медицинских наук СССР
Москва

Поступило
1 VI 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Т. Б. Казакова, М. Н. Гачева, Н. А. Чеботарь, Молек. биол., 5, 2, 280 (1971). ² Ф. З. Меэрсон, Гиперфункция, гипертрофия, недостаточность сердца. М., 1968. ³ Ф. З. Меэрсон, М. Я. Майзелис и др., ДАН, 184, № 2, 500 (1969). ⁴ Ф. З. Меэрсон, М. Я. Майзелис и др., ДАН, 187, № 3, 697 (1969). ⁵ В. П. Скулачев, С. П. Маслов, Биохимия, 28, 1, 70 (1963). ⁶ J. Goa, Scand. J. Clin. Labor. Invest., 5, 218 (1953). ⁷ Ph. D. Gollick, D. W. King, Am. J. Physiol., 216, 6, 1502 (1969). ⁸ Z. Gottesfeld, T. A. Miller, Am. J. Physiol., 216, 6, 1374 (1969). ⁹ J. P. Nappon, Am. J. Physiol., 198, 4, 740 (1960). ¹⁰ P. Horowitz, M. G. Larrabee, J. Neurochem., № 2, 102 (1958). ¹¹ A. Hurtado, In: The Physiological Effects of High Altitude, 1964, p. 1. ¹² J. Karlson, B. Saltin, J. Appl. Physiol., 29, 5, 598 (1970). ¹³ L. S. Ou, S. M. Tenney, Resp. Physiol., 8, 2, 451 (1970). ¹⁴ H. Sobel, F. M. Cohen, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 99, 656 (1958). ¹⁵ C. L. Widnell, T. N. Hamilton, J. K. Tata, J. Cell. Biol., 32, 3, 766 (1967).