

Н. Р. ЧАГОВЕЦ

АДЕНИННУКЛЕОТИДЫ, НАД⁺ И НАДН В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ ПРИ ИНТЕНСИВНОЙ РАБОТЕ И В ПЕРИОД ОТДЫХА

(Представлено академиком Е. М. Крепом 10 IV 1972)

При исследовании метаболизма работающих и отдыхающих мышц несомненный интерес представляет сопоставление состояния фосфорилирования адениннуклеотидов и степени восстановленности никотинамидадениндинуклеотида (НАД) — веществ, играющих важнейшую роль в осуществлении метаболического контроля генерирования энергии в клетке (^{1, 2}).

Исходя из этого, мы поставили своей задачей изучить динамику содержания адениннуклеотидов, НАД⁺ и НАДН в скелетных мышцах при интенсивной деятельности и в период релаксации, используя наиболее специфичные и чувствительные методы исследования.

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 плавание при температуре воды 32°) и через различные интервалы отдыха. Задние конечности животных, отрезаемые одновременно с декапитацией, замораживали в жидком азоте. Обработку материала проводили в рефрижераторной комнате при температуре 0–3°. В замороженном мышечном порошке, полученном из *m. quadriceps* и *m. gastrocnemius* и освобожденном от сухожилий, энзиматическими методами определяли содержание АТФ (по Лампрехту и Траутшольду (³)), АДФ (по Адаму (⁴)), НАД⁺ и НАДН (по Эстабруку с сотрудниками (⁵)). Для избежания окисления НАДН его экстракцию осуществляли в присутствии цистеина (⁶). Флуориметрические измерения проводили на высокочувствительном флуориметре конструкции А. Д. Виноградова (⁷).

Как видно из полученных результатов (табл. 1, рис. 1), в мышцах неработающих животных обнаружены высокие величины как содержания АТФ, так и отношения АТФ/АДФ, соответствующие максимальным значениям, известным в литературе (^{8, 9}).

Следовательно, степень альтерации при использованных методах фиксации и экстракции была сравнительно невелика (¹⁰). Видимо, этим обусловлено и высокое содержание в мышцах НАД, особенно его восстановленной формы, уровень которой согласуется лишь с последними данными Телешневой и Мештер (⁶), значительно превышая величины, известные ранее для скелетных мышц (^{11–13}).

Интенсивное 15-минутное плавание животных, сопровождающееся понижением отношения АТФ/АДФ с 8,7 до 7,0, приводит к значительно-

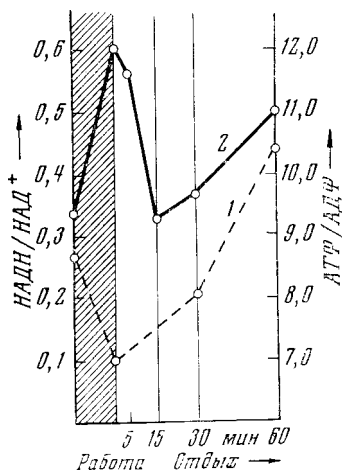


Рис. 1. Изменение отношения АТФ/АДФ (1) и НАДН/НАД⁺ (2) в мышцах крыс при работе и отдыхе

Таблица 1

Содержание адениннуклеотидов, НАД⁺ и НАДН в скелетных мышцах белых крыс при работе и отдыхе (μ моли)/г ткани

Условия опыта	Время, мин.	АТФ	АДФ	АМФ	НАД ⁺	НАДН
Покой	—	7,40±0,12	0,848±0,030	0,243±0,007	0,744±0,015	0,254±0,005
Плавание	15	6,64±0,11	0,943±0,036	0,260±0,005	0,587±0,009	0,356±0,003
Отдых	5	—	—	—	0,620±0,008	0,375±0,002
»	15	—	—	—	0,760±0,009	0,253±0,004
»	30	7,08±0,10	0,882±0,024	0,240±0,007	0,707±0,010	0,282±0,008
»	60	7,74±0,11	0,742±0,026	0,228±0,010	0,658±0,007	0,326±0,005

му нарастанию содержания НАДН и увеличению отношения НАДН/НАД⁺ почти в 2 раза без заметного изменения мышечного пула НАД. Это согласуется с динамикой изменений, обнаруженной в аналогичных опытах при использовании других методов исследования (¹², ¹⁴).

После прекращения работы степень восстановленности мышечного НАД нормализуется через 15 мин. отдыха, тогда как отношение АТФ/АДФ в мышцах оказывается еще несколько пониженным даже через 30 мин. после окончания работы. Лишь в течение последующего получаса отдыха происходит полное восстановление и суперкомпенсация фосфорилирования адениннуклеотидов, так что через 60 мин. отдыха отношение АТФ/АДФ в мышцах более чем на 19% превышает исходную, дорабочую величину.

Одновременно с увеличением степени фосфорилирования адениннуклеотидов в мышцах происходит новое (хотя и менее значительное, чем во время работы) увеличение восстановленности НАД, проявляющееся в росте отношения НАДН/НАД⁺ с 0,33 (через 15 мин. отдыха) до 0,49 (в фазе суперкомпенсации рабочих энергетических траг). Таким образом, динамика изменения отношения НАДН/НАД⁺ в мышцах при интенсивной деятельности и в период отдыха имеет вид волнообразной кривой, причем первый подъем ее оказывается в противофазе с состоянием фосфорилирования адениннуклеотидов, а второй протекает синхронно с ростом отношения АТФ/АДФ. Можно полагать, что первый пик НАДН связан с гипоксической фазой мышечной деятельности и усиленным образованием восстановительных эквивалентов в цитолизе вследствие активации гликолиза в условиях резкого энергетического дефицита (¹⁵). Это подтверждается и быстрой нормализацией редокс состояния НАД в мышце после прекращения работы, совпадающей по времени с устранением избытка лактата, образовавшегося при ее выполнении (¹⁶). Что же касается второго повышения уровня НАДН, наблюдающегося в период отдыха — в фазе сверхвосстановления энергетических ресурсов мышцы (¹⁶), то, по всей вероятности, оно первично обусловлено ростом восстановленности митохондриального пула НАД, индуцируемого избытком субстратов (¹⁷) в высокоэнергетическом состоянии митохондрий (¹⁸).

Следовательно, второе повышение уровня НАДН, подобно увеличению отношения АТФ/АДФ, может рассматриваться как проявление послерабочей суперкомпенсации энергетического потенциала клетки. Таким образом, хотя определение общего содержания НАД⁺ и НАДН в ткани не дает непосредственной информации о редокс состоянии никотинамидных коферментов в различных компартментах клетки (¹⁹), тем не менее эти данные в сопоставлении с динамикой адениннуклеотидов позволяют судить о характере и локализации процессов, определяющих состояние системы НАД в клетках мышечной ткани при различных функциональных состояниях организма.

Ленинградский научно-исследовательский институт физической культуры

Поступило
21 III 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. Krebs, R. Veech, Adv. in Enzyme Regul., 7, 397 (1969). ² Н. Krebs, Adv. in Enzyme Regul., 8, 335 (1970). ³ W. Lamprecht, J. Trautschold, Methods of Enzymatic Analysis, 1963, p. 543. ⁴ Н. Adam, ibid., p. 573. ⁵ R. Estabrook, J. Williamson et al., Methods in Enzymol., 10, 474 (1967). ⁶ В. И. Телепнева, Р. Мештер, Биохимия, 34, 1, 160 (1969). ⁷ А. Д. Виноградов, Окисление сукцината и обратный транспорт электронов в дыхательной цепи, Кандидатская диссертация, М., 1968. ⁸ Н. Hohorst, M. Reim, H. Bartels, Biochem. Biophys. Res. Commun., 7, 142 (1962). ⁹ G. Drummond, Fortschritte d. Zool., 18, 359 (1967). ¹⁰ Н. Hohorst, F. Kreutz, Th. Bücher, Biochim. Zs., 332, 18 (1959). ¹¹ C. Villee, Biochem. J., 83, 191 (1962). ¹² Г. П. Федорова, Укр. биохим. журн., 37, 91 (1965). ¹³ В. И. Телепнева, Н. А. Черкашина, Вопр. мед. хим., 12, 393 (1966). ¹⁴ Н. Н. Яковлев, Укр. биохим. журн., 43, 582 (1971). ¹⁵ B. Chance, Texas Reports on Biol. and Medic., 22, 836 (1964). ¹⁶ Н. Р. Чаговец, Укр. биохим. журн., 29, 450 (1957). ¹⁷ F. Jöbsis, J. Duffield, J. Gen. Physiol., 50, 1009 (1967). ¹⁸ B. Chance, G. Williams, J. Biol. Chem., 217, 383, 409 (1955). ¹⁹ Н. Krebs, Adv. in Enzyme Regul., 5, 409 (1967).