

Ю. А. ПЕТРОВИЧ, Л. М. ЛЕМКИНА, Н. П. ЛЕБКОВА, Т. П. ВАВИЛОВА

**СОДЕРЖАНИЕ АТФ, ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ
И ТРАНСПОРТ ИОНОВ В МЕМБРАННЫХ СТРУКТУРАХ
ПЕЧЕНИ ПРИ НАРУШЕНИИ ЕЕ ИННЕРВАЦИИ**

(Представлено академиком Г. М. Франком 15 II 1974)

Одним из механизмов реализации трофической функции нервной системы может служить регуляция проникновения ионов и соединений через мембранны органов, клеток, субклеточных структур, в том числе против градиента концентрации и с затратой энергии.

С учетом сказанного в работе сопоставляли уровни АТФ и окислительного фосфорилирования с транспортом ионов и с состоянием плазматических и митохондриальных мембран денервированной печени.

У 54 крыс частично денервировали печень по методу ⁽¹⁾, у 53 контрольных животных производили лапаротомию. Через 7–10 дней крыс брали в опыт. NaCl^{36} , $\text{Ca}^{45}\text{Cl}_2$, $\text{Na}_2\text{HP}^{32}\text{O}_4$ вводили подкожно по 2000–10 000 имп/мин на 1 г веса и в течение 2 час. определяли проникновение меток из крови в желчь, дренируя общий желчный проток. Одновременно с порциями желчи брали пробы крови из вены хвоста. Вычисляли относительную активность (о.а.) желчь/кровь. Через 2 часа выделяли из печени митохондрии по методу ⁽²⁾, подсчитывали процент включения. Определяли содержание АТФ ⁽³⁾. Окислительное фосфорилирование изучали в гомогенатах и митохондриях. Определяли белок ⁽⁴⁾ и фосфор ⁽⁵⁾.

У контрольных крыс в желчи в 6–7 раз больше содержалось Ca^{45} , чем в крови (табл. 1). P^{32} мало переходил в желчь. За исключением начала

Таблица 1

Относительная активность желчь/кровь Ca^{45} , P^{32} и Cl^{36} интактных крыс и крыс с нарушенной иннервацией печени *

Группа	Время после введения изотопа, мин. ($M \pm m$)			
	15	45	75	105
Радиоактивный кальций				
Контроль	$1,6 \pm 0,1$	$7,3 \pm 0,5$	$6,7 \pm 0,6$	$5,9 \pm 0,3$
Нарушение иннервации	$2,2 \pm 0,2$ $p < 0,02$	$10,4 \pm 0,9$ $p < 0,01$	$11,8 \pm 0,9$ $p < 0,001$	$9,1 \pm 0,5$ $p < 0,001$
Радиоактивный фосфор				
Контроль	$0,13 \pm 0,03$	$0,32 \pm 0,03$	$0,28 \pm 0,02$	$0,29 \pm 0,03$
Нарушение иннервации	$0,09 \pm 0,01$ $p > 0,2$	$0,17 \pm 0,02$ $p < 0,01$	$0,19 \pm 0,03$ $p < 0,02$	$0,19 \pm 0,02$ $p < 0,02$
Радиоактивный хлор				
Контроль	$0,79 \pm 0,08$	$2,22 \pm 0,35$	$1,95 \pm 0,21$	$1,49 \pm 0,10$
Нарушение иннервации	$0,73 \pm 0,05$ $p > 0,5$	$1,87 \pm 0,10$ $p > 0,2$	$1,64 \pm 0,10$ $p > 0,2$	$1,42 \pm 0,07$ $p > 0,5$

* Количество крыс в каждой группе табл. 1–3 колебалось от 9 до 15.

опыта в желчи несколько больше содержалось Cl^{36} , чем в крови. Интересно, что через 2 часа в митохондриях было в 20 раз больше Ca^{45} , в 7 раз больше P^{32} , но в 30 раз меньше Cl^{36} , чем в крови (табл. 2). Значительное накопление фосфата в митохондриях согласуется с его ролью в фосфорилировании АДФ, в биосинтезе фосфолипидов и фосфопротеинов митохондриальных мембран, с существованием на внутренней мембране специфического переносчика фосфата (6-9). Известна способность митохондрий аккумулировать

Таблица 2

Процент включения Ca^{45} , P^{32} , Cl^{36} в митохондрии и содержание АТФ (мкмоль на 1 г сырого веса) в печени интактных крыс и с нарушенной иннервацией печени ($M \pm m$)

Группа	Изотопы			АТФ
	Ca^{45}	P^{32}	Cl^{36}	
Контроль	195,3 \pm 8,4	284,6 \pm 11,8	5,2 \pm 0,6	3,27 \pm 0,06
Нарушение иннервации	86,1 \pm 5,6 $p < 0,001$	190,3 \pm 8,3 $p < 0,001$	26,9 \pm 2,3 $p < 0,001$	1,91 \pm 0,16 $p < 0,001$

большие количества Ca^{2+} (10, 11). Малое поступление Cl^{36} в митохондрии соответствует данным о слабом проникновении Cl^- через митохондриальную мембрану (7, 12).

После нарушения иннервации о.а. желчь/кровь Ca^{45} была в 1,5-2 раза выше, чем у контрольных крыс (табл. 1). О.а. P^{32} снижалась сравнительно с контролем. Однако о.а. Cl^{36} существенно не менялась. В митохондриях денервированной печени процент включения Ca^{45} снижался вдвое, P^{32} в полтора раза, а Cl^{36} , напротив, увеличивался в 5 раз (табл. 2). Содержание АТФ в денервированной печени уменьшалось почти в 2 раза (табл. 2), а Р/О существенно падало при повышенном поглощении O_2 (табл. 3). Такое разобщение окислительного фосфорилирования и дыхания отмечено как на сукцинате, так и на глутамате. Аналогично снижалось Р/О и повышалось дыхание с субстратами сукцинатом или глутаматом и изолированных из денервированной печени митохондрий.

При электронно-микроскопическом исследовании отмечен резкий межклеточный отек, приводящий к разобщению многих гепатоцитов и дезорганизации желчных капилляров (рис. 1а). Выявлены печеночные клетки с нарушенной целостностью плазмалеммы (рис. 1б). В большинстве мито-

Таблица 3

Окислительное фосфорилирование в гомогенатах и митохондриях печени интактных крыс и с нарушенной иннервацией печени ($M \pm m$)

Группа	Субстрат — сукцинат			Субстрат — глутаминовая кислота		
	ΔO_2 , мккат. на 1 мг белка	ΔP , мккат на 1 мг белка	Р/О	ΔP , мккат на 1 мг белка	ΔO_2 , мккат на 1 мг белка	Р/О
М и т о х о н д р и и						
Контроль	2,13 \pm 0,03	3,83 \pm 0,07	1,79 \pm 0,02	2,29 \pm 0,03	6,15 \pm 0,10	2,68 \pm 0,03
Нарушение иннервации	2,74 \pm 0,03 $p < 0,001$	3,50 \pm 0,10 $p < 0,01$	1,28 \pm 0,03 $p < 0,001$	2,84 \pm 0,07 $p < 0,001$	5,64 \pm 0,15 $p < 0,01$	1,98 \pm 0,04 $p < 0,001$

Гомогенаты

Контроль	1,20 \pm 0,03	2,05 \pm 0,06	1,73 \pm 0,02	1,48 \pm 0,03	3,68 \pm 0,05	2,48 \pm 0,04
Нарушение иннервации	1,42 \pm 0,02 $p < 0,001$	1,92 \pm 0,06 $p > 0,1$	1,35 \pm 0,04 $p < 0,001$	1,79 \pm 0,03 $p < 0,001$	3,40 \pm 0,09 $p < 0,02$	1,92 \pm 0,03 $p < 0,01$

хондрий обнаружены деструктивные изменения в виде резкого уплотнения или набухания матрикса, лизиса крист, а также внутренних и наружных мембран (рис. 1а, б). Установлено значительное разобщение межэндотелиальных контактов во многих капиллярах (рис. 1в) (рис. 1 см. вкл. к стр. 1169).

Поскольку постулируется, что образование АТФ и поглощение Ca^{2+} митохондриями связано с конкуренцией за промежуточный богатый энергией продукт $X \sim Y$ (¹³, ¹⁴), можно предположить, что денервация снижает образование интермедиата и вследствие этого уменьшается поглощение Ca^{45} и P^{32} митохондриями, падает Р/О в печени и ее митохондриях, а также содержание АТФ в печени. Так как митохондрии — главный акцептор Ca^{2+} , то, вероятно, увеличение выделения Ca^{45} с желчью при денервации вызвано уменьшением аккумуляции его митохондриями. Снижение аккумуляции митохондриями P^{32} без увеличения его секреции в составе желчи возможно объясняется интенсивным включением P^{32} в различные субклеточные структуры помимо митохондрий, чем P^{32} и отличается от Ca^{45} .

Возможно, малая проницаемость мембранны митохондрий для Cl^- в норме, паряду с другими причинами, связана с биоэнергетическим механизмом, косвенно препятствующим проникновению Cl^- внутрь митохондрий из-за прямого влияния на транспорт других ионов. В пользу этого говорят увеличение в 3–4 раза проницаемости митохондриальной мембранны для Cl^- при разобщении окислительного фосфорилирования с помощью 2,4-динитрофенола (¹⁵). Это в известной мере согласуется с нашими данными, когда при пятикратном повышении проницаемости митохондриальных мембранны для Cl^{36} в случае денервации, действующей подобно разобщителям, снижается Р/О и повышается поглощение кислорода.

Полученные биохимические, радиоиндикационные и ультраструктурные данные свидетельствуют о том, что нервная система обеспечивает в ткани печени и ее митохондриях определенный уровень энергетического обмена и в строго очерченных параметрах селективную проницаемость для ряда ионов. При нарушении иннервации печени наблюдается дискоординация нормальных соотношений между биоэнергетикой и ионным транспортом в полимembrанных структурах этого органа.

Московский медицинский стоматологический институт

Поступило

Центральный институт усовершенствования врачей
Москва

15 II 1974

Пермский медицинский институт

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. Н. Никитин, Р. И. Голубицкая и др., Тр. Н.-и. инст. биол. Харьковск. унив., т. 24, 101 (1956). ² C. H. Hogeboom, W. C. Schneider, G. H. Palade, J. Biol. Chem., v. 172, 619 (1948). ³ W. Lamprecht, J. Trautschold, In: Methoden der enzymatischen Analyse, Berlin, 1970, S. 2024. ⁴ O. H. Lowry, N. J. Rosebrough et al., J. Biol. Chem., v. 193, 265 (1951). ⁵ В. П. Скулачев, Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи, М., 1962. ⁶ D. Tyler, Biochem. J., v. 111, 665 (1969). ⁷ M. Klingenberg, FEBS Letters, v. 6, 145 (1970). ⁸ B. C. Pressman, In: Membrane Mitochondria and Chloroplast, N. Y., 1970, p. 213. ⁹ J. B. Chappel, Biochem. J., v. 116, 3 (1970). ¹⁰ A. L. Lehninger, E. Carafoli, Federat. Proc., v. 28, 664 (1969). ¹¹ Ю. В. Евдотиенко, Л. В. Кузина, В кн.: Свойства и функции макромолекул и микромолекулярных систем, М., 1969, p. 171. ¹² P. Mitchell, J. Moyle, Europ. J. Biochem., v. 9, 149 (1969). ¹³ C. J. Rossi, A. L. Lehninger, J. Biol. Chem., v. 239, 3971 (1964). ¹⁴ R. Toury, Ann. Biol., v. 10, 569 (1971). ¹⁵ J. Gamble, Biochem. et biophys. acta, v. 66, 158 (1963).