

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 мембраны 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. NaCl³⁶, Ca⁴⁵Cl₂, Na₂HP³²O₄ 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 Ca⁴⁵, чем в крови (табл. 1). P³² мало переходил в желчь. За исключением начала

Таблица 1

Относительная активность желчь/кровь Ca⁴⁵, P³² и Cl³⁶ 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±0,1	7,3±0,5	6,7±0,6	5,9±0,3
Нарушение иннервации	2,2±0,2 $p < 0,02$	10,4±0,9 $p < 0,01$	11,8±0,9 $p < 0,001$	9,1±0,5 $p < 0,001$
Радиоактивный фосфор				
Контроль	0,13±0,03	0,32±0,03	0,28±0,02	0,29±0,03
Нарушение иннервации	0,09±0,01 $p > 0,2$	0,17±0,02 $p < 0,01$	0,19±0,03 $p < 0,02$	0,19±0,02 $p < 0,02$
Радиоактивный хлор				
Контроль	0,79±0,08	2,22±0,35	1,95±0,21	1,49±0,10
Нарушение иннервации	0,73±0,05 $p > 0,5$	1,87±0,10 $p > 0,2$	1,64±0,10 $p > 0,2$	1,42±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 (мкмол. на 1 г сырого веса) в печени intactных 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 P/O 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 P/O 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 intactных крыс и с нарушенной иннервацией печени ($M \pm m$)

Группа	Субстрат — сукцинат			Субстрат — глутаминовая кислота		
	ΔO , мкат. на 1 мг белка	ΔP , мкат. на 1 мг белка	P/O	ΔP , мкат. на 1 мг белка	ΔO , мкат. на 1 мг белка	P/O

Митохондрии

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 капилярах (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 $\text{X} \sim \text{Y}$ (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 мембраны митохондрий для Cl^- в норме, наряду с другими причинами, связана с биоэнергетическим механизмом, косвенно препятствующим проникновению Cl^- внутрь митохондрии из-за прямого влияния на транспорт других ионов. В пользу этого говорит увеличение в 3—4 раза проницаемости митохондриальной мембраны 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 мембран 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 полимембранных 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 С. Н. 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. Евдокиенко, 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. Leninger, 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).