

Б. И. МЕДВЕДЕВ, Ю. В. ЕВТОДИЕНКО, член-корреспондент АН СССР А. М. КУЗИН

### ДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА ИОННУЮ ПРОНИЦАЕМОСТЬ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ МЕМБРАН

Согласно структурно-метаболической теории, существенным этапом радиационного поражения клетки является нарушение процессов преобразования энергии в митохондриях (<sup>1</sup>). Большое количество работ посвящено изменению параметров окислительного фосфорилирования при действии радиации. Значительно меньше в литературе сведений о воздействии радиации на другую, не менее важную, функцию митохондрий — транспорт ионов, играющий существенную роль в поддержании ионного гомеостаза в клетках. В связи с этим в настоящей работе исследовали влияние ионизирующей радиации на активный транспорт ионов кальция в митохондриях, сопряженный с выходом из митохондрий ионов  $H^+$  и  $K^+$ .

Для опытов использовали самцов белых крыс (Вистар, стадное разведение) весом 180—200 г. Функциональное состояние митохондрий оценивали через 24 часа после облучения животных гамма-лучами в дозе 1 кр. Митохондрии из печени выделяли по методу, описанному в работе Кудзиной (<sup>2</sup>). Величины потоков ионов  $K^+$  и  $H^+$  через мембрану, сопряженные с активным транспортом кальция, оценивали с помощью ион-специфичных стеклянных электродов. Белок определяли по Лоури (<sup>3</sup>).

В наших экспериментах не удалось обнаружить различия в скорости синтеза АТФ, измеренной по методу, изложенному в работе Нишимура и др. (<sup>4</sup>), и содержания цитохромов групп А и В, измеренном методом дифференциальной спектрофотометрии (<sup>5</sup>) в митохондриях контрольных и опытных животных через 24 часа после облучения. Существенные различия были обнаружены при исследовании системы транспорта ионов  $K^+$  и  $Ca^{2+}$  в митохондриях контрольных и опытных животных. Результаты этих исследований представлены на рис. 1. Показано, что при добавлении ионов  $Ca^{2+}$  к суспензии митохондрий из контрольных животных происходит освобождение ионов  $H^+$  и  $K^+$ . После поглощения добавленного  $Ca^{2+}$  в реакционной среде устанавливается новый, более высокий уровень концентрации ионов  $H^+$  и  $K^+$ . При добавлении ионов  $Ca^{2+}$  к суспензии митохондрий из облученных крыс происходит освобождение ионов  $H^+$ , однако скорость выхода ионов  $K^+$  из митохондрий крайне низкая. При добавлении второй порции ионов  $Ca^{2+}$  митохондрий контрольных животных теряют весь содержащийся в них калий, причем в первый момент после добавления  $Ca^{2+}$  также наблюдается выход ионов  $H^+$  из митохондрий, однако в дальнейшем происходит спонтанное защелачивание среды. В результате градиенты ионов  $H^+$ ,  $K^+$  и  $Ca^{2+}$  между матриксом и внешней средой выравниваются и митохондрии теряют способность к окислительному фосфорилированию. При добавлении второй порции  $Ca^{2+}$  к митохондриям из облученных животных происходит активный обмен ионов  $Ca^{2+}$  на ионы  $H^+$ , ионы  $K^+$  не освобождаются из митохондрий, и способность к окислительному фосфорилированию сохраняется. После третьей добавки ионов  $Ca^{2+}$  к митохондриям опытных животных происходит как освобождение ионов  $H^+$ , так и незначительная потеря ионов  $K^+$  из митохондрий. При этом после поглощения добавленного  $Ca^{2+}$  митохондрии в течение некоторого времени удерживают градиент ионов  $Ca^{2+}$ ,  $H^+$  и  $K^+$  на мембране, а затем спонтанно защелачиваются и теряют эндогенный калий, но с меньшей скоростью, чем контрольные митохондрии.

Таким образом, полученные результаты показывают, что после облучения происходит увеличение «кальциевой емкости» митохондрий и сни-

жение калиевой проницаемости митохондриальных мембран. Нами было проведено десять экспериментов в различное время года, и во всех случаях наблюдались указанные различия.

Поскольку транспорт ионов в митохондриях в значительной степени определяется свойствами гидрофобной липидной фазы биомембран, было высказано предположение, что наблюдаемые изменения калиевой проницаемости митохондрий связаны с изменением липидов при действии радиации. В связи с этим представлялось интересным исследовать проницаемость искусственных мембран, построенных из облученных и необлученных липидов. Для этого были выделены липиды внутренних мембран митохондрий контрольных и опытных животных спустя 24 часа после облучения и из них образованы искусственные бислойные липидные мембраны по методу, описанному в работе Либермана и сотрудников (6).

В среде, не содержащей калия, сопротивления искусственных мембран из липидов митохондрий контрольных и опытных животных существенно не различались. В присутствии 100 мМ калия сопротивление искусственных мембран из липидов контрольных митохондрий животных уменьшалось в 500 раз. Это указывает на то,

Рис. 1. Кинетика ионного обмена  $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{H}^+$  и  $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{K}^+$  в суспензии митохондрий контрольных (1) и облученных (2) животных. Состав среды инкубации: сахараза 200 мМ, холин 50 мМ, трис 1 мМ, КСl 0,1 мМ, сукцинат 2 мМ, рН 7,5. Митохондрии 0,1 мл из расчета 50 мг белка на 1 мл. Добавки  $\text{CaCl}_2$  200 мМ

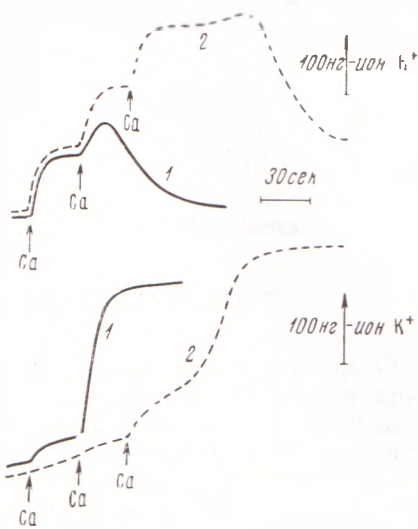


Таблица 1

Сопротивление искусственных липидных мембран, ом

Добавки к среде	Контроль	Опыт
Без добавок	0,5—2 · 10 <sup>10</sup>	1—2 · 10 <sup>10</sup>
КСl 100 мМ	1—4 · 10 <sup>7</sup>	1—2 · 10 <sup>10</sup>

Примечание. Состав среды: трис-буфер 10 мМ, рН 7,5. Диаметр отверстия, на котором производилось формирование мембран, 1 мм.

животных, отсутствует или не функционирует в липидах митохондрий облученных животных. Полученные данные дают основание считать, что обнаруженное нами изменение проницаемости митохондриальной мембраны при облучении обусловлено существенным изменением в липидах внутренней мембраны митохондрий.

Институт биологической физики Академии наук СССР  
Пушино-на-Оке

Поступило  
22 III 1974

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> А. М. Кузин, Структурно-метаболическая гипотеза в радиобиологии, «Наука», 1970. <sup>2</sup> Л. Ю. Рудзина, Регуляция дыхания митохондрий эндэргоническими реакциями, Кандидатская диссертация, Пушино, 1970. <sup>3</sup> О. Н. Lowry, N. J. Rosenbrough et al., J. Biol. Chem., v. 193, 265 (1951). <sup>4</sup> М. Nishimura, T. Ito, B. Chance, Biochem. et biophys. acta, v. 59, 177 (1962). <sup>5</sup> Ю. В. Егоровиенко, Е. Н. Мохова, В сборн. Механизмы дыхания, фотосинтеза и фиксации азота, «Наука», 1967 стр. 35. <sup>6</sup> А. В. Бабакоев, Л. Н. Ермишкин, Е. А. Либерман, Журн. эволюцион. биохим. и физиол., т. 2, 2, 96 (1966).