

Н. Р. ЧАГОВЕЦ

**СИНТЕЗИРУЮЩЕЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ
КАК ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ ОСНОВА ПОСТФУНКЦИОНАЛЬНЫХ
КОМПЕНСАТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ**

(Представлено академиком Е. М. Крепсом 16 VIII 1974)

Одним из необходимых условий оптимального протекания в скелетной мышце постфункциональных компенсаторных процессов является энергетическое сопряжение в дыхательной цепи мышечных митохондрий (¹). В связи с этим, анализируя биохимические механизмы, обеспечивающие возникновение фазы суперкомпенсации рабочих затрат в отдыхающей мышце, мы обратились к изучению градаций метаболического состояния митохондрий.

Опыты проводили на взрослых белых крысах-самцах весом 180–200 г. Животных исследовали в состоянии физиологического покоя, после крат-

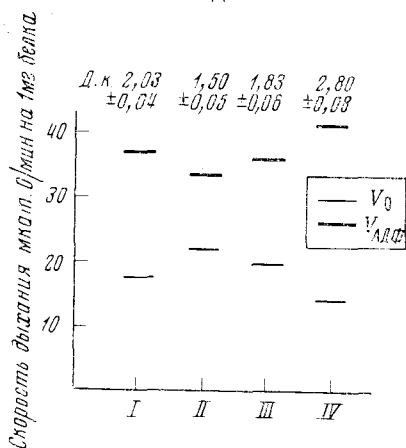


Рис. 1. Дыхательный контроль (д.к.) и скорость дыхания (V) митохондрий скелетных мышц крыс в состоянии покоя (I), после 15-минутного плавания (II), через 30 мин. (III) и 60 мин. (IV) отдыха. Состав инкубационной среды (в мкмольях на 1 пробу): К-фосфатный буфер pH 7,4 18; KCl 122; $MgCl_2$ 6; субстрат (пируват+малат 10:1) 25, АДФ 0,2; около 3 мг белка митохондрий, объем пробы 1 мл, инкубация при 26°

ковременной интенсивной работы (15-минутное плавание при температуре воды 32°) и через различные интервалы отдыха. Митохондрии выделяли из *m. quadriceps* и *m. gastrocnemius* путем дифференциального центрифугирования гомогената (²) в среде, содержащей 0,25 M сахарозу и 0,001 M ЭДТА (pH 7,4). Чистоту фракции контролировали с помощью электронной микроскопии. Интенсивность дыхания изолированных митохондрий измеряли полярографическим методом, оптическую плотность митохондриальных суспензий — по Киллепду (³), содержание белка — биуретовым методом (⁴). Наряду с этим в мышцах, замороженных в жидком азоте, определяли содержание β -оксибутирата и ацетоацетата (⁵), динамика отношения которых позволяет косвенно судить об изменении митохондриального отношения $[НАД-Н]/[НАД^+]$ и величины фосфатного потенциала $[АТФ]/[АДФ][Ф_n]$ митохондрий (⁶). Адекватность этого критерия применительно к исследуемым состояниям скелетных мышц установлена экспериментально (⁷).

Оптическая плотность свежевыделенных митохондрий, снижаясь под влиянием интенсивной работы, превышает исходную величину через 60 мин. — в период сверхвосстановления содержания креатинфосфата и гликогена мышц (⁸) (ϵ_{520} на 1 мг белка в покое равно $0,513 \pm 0,006$, при 15-минутном плавании $0,450 \pm 0,08$, при 60-минутном отдыхе $0,607 \pm 0,006$).

Это позволяет полагать, что набухание митохондрий в условиях рабо-

чего энергетического дефицита (9) сменяется их повышенной компактностью в фазе суперкомпенсации энергетических резервов мышцы, что подтверждается и результатами электронно-микроскопического анализа ультратонких срезов митохондриальной фракции (10).

Закономерные изменения претерпевает величина дыхательного контроля, позволяющего судить о степени энергизации митохондрий, особенно при учете исходных скоростей дыхания (v_0) сравниваемых образцов (11). Как видно из рис. 1, наименьшая стимуляция дыхания при добавке АДФ отмечается во фракции, выделенной тотчас по окончании работы и характеризующейся наибольшим исходным потреблением кислорода. Через 30 мин. отдыха исходная скорость дыхания ниже, чем сразу по окончании работы, но выше, чем в состоянии покоя. Промежуточной оказывается и величина дыхательного контроля. Наконец, через 60 мин. отдыха скорость дыхания без АДФ минимальная — на 20% ниже, чем в контрольных образцах; реакция же на экзогенный АДФ максимальная и на 40% превышает ответ митохондрий, изолированных из мышц неработавших животных. Следовательно, низкоэнергетическое состояние, присущее митохондриям интенсивно работающих мышц, сменяется в периоде отдыха превышением исходного уровня энергизации, которое наступает синхронно с избыточной компенсацией рабочих резервов мышцы.

Таблица 1

Состояние редокс-пары β -оксibuтиратдегидрогеназы скелетных мышц крыс в покое, при работе и отдыхе ($M \pm m$; мкмол. на 1 г свежей ткани)

Условия опыта	β -Оксibuтират	Ацетоацетат	$\frac{[\beta\text{-Оксibuтират}]}{[\text{ацетоацетат}]}$
Покой	$0,107 \pm 0,007$	$0,058 \pm 0,004$	1,84
15-минутное плавание	$0,115 \pm 0,013$ $P > 0,5$	$0,070 \pm 0,006$ $P < 0,01$	1,64
30-минутный отдых	$0,136 \pm 0,011$ $P < 0,01$	$0,061 \pm 0,004$ $P > 0,5$	2,22
60-минутный отдых	$0,141 \pm 0,017$ $P < 0,01$	$0,055 \pm 0,003$ $P > 0,5$	2,56

Измерение отношения $[\beta\text{-оксibuтират}]/[\text{ацетоацетат}]$ в мышечной ткани (табл. 1), проведенное нами совместно с Л. Г. Лешкевич, также подтверждает заключение о фазных изменениях степени энергизации митохондрий.

Вместе с тем, сопоставление динамики фосфатного потенциала и дыхательного контроля митохондрий выявляет некоторую их асинхронность в начальном периоде отдыха, когда наиболее интенсивно протекают компенсаторные процессы, обусловленные функцией. Так, через 30 мин. после окончания работы редокс-пара β -оксibuтиратдегидрогеназы указывает на повышенную степень восстановленности митохондриального НАД и известное превышение исходной величины фосфатного потенциала митохондрий; в это же время относительная величина дыхательного ответа на АДФ, обнаруживая признаки «отхода» от низкоэнергетического состояния активности, не достигает еще дорабочего значения.

Эти данные, по нашему мнению, свидетельствуют о постфункциональном переходном состоянии метаболизма митохондрий, когда повышение общего уровня энергизации митохондрий работавших мышц (интегрально отражаемое ростом фосфатного потенциала) оптимально обеспечивает эндэргонические компенсаторные процессы. Последние создают потребность в непрерывном возобновлении утилизируемого АТФ, хотя и менее

интенсивном, чем при активации функции, что находит отражение в динамических дыхательных параметрах.

Отток энергии на цитоплазматические синтезы, создавая возобновляющийся фонд акцепторов в митохондриях отдыхающих мышц, не позволяет рассматривать это состояние как состояние 4 покоя изолированных митохондрий (¹²). Вместе с тем, его нельзя назвать и низкоэнергетическим состоянием 3 активности, для которого характерно понижение восстановленности митохондриальных пиридиннуклеотидов.

Выявленное в наших опытах переходное метаболическое состояние мышечных митохондрий в постфункциональный период мы называем «синтезирующим», чтобы подчеркнуть его специфическую функциональную направленность. Переходный характер синтезирующего состояния проявляется в еще повышенной окислительной активности митохондрий при уже возрастающей степени восстановленности митохондриального НАД. Последнее, ограничивая окисление НАД-зависимых субстратов, способствует аллостерической активации сукцинатдегидрогеназы (¹³, ¹⁴). Поэтому роль предпочтительного субстрата в энергетическом обеспечении компенсаторных синтезов приобретает сукцинат, накапливающийся в мышцах во время работы (¹⁵) и усиленно продуцируемый в ходе восстановительного периода из метаболизируемых жирных кислот (¹⁶).

По своей субстратной характеристике — предпочтительное окисление сукцината в ущерб НАД-зависимым субстратам — синтезирующее состояние митохондрий отдыхающих мышц обнаруживает аналогию с промежуточным состоянием 3, 5 изолированных митохондрий (¹⁷), когда вследствие их обработки атрактилозидом обеспечивается субоптимальная доступность АДФ, не вызывающая активации всей дыхательной цепи и окисления пиридиннуклеотидов.

Следствием синтезирующего состояния митохондрий отдыхающих мышц является не только возможность повышенной энергопродукции в условиях активного функционирования лишь терминальной части дыхательной цепи, но и «обход», шунтирование наиболее контролируемого (¹⁷) первого пункта энергетического сопряжения. Именно в этой связи синтезирующее состояние митохондрий рассматривается нами как механизм, реализующий постфункциональную инерционность энергопродукции АТФ над ее потреблением вопреки внутриклеточному контролю фосфорилирования, осуществляемому по типу обратной связи.

На основе постфункционального синтезирующего состояния митохондрий скелетных мышц представляется возможным не только переход к последующему состоянию повышенной энергизации митохондрий, но и синхронное превышение энергетического баланса отдыхающей мышечной клетки в целом (⁷, ⁹). Проявлением последнего на уровне цитозола является суперкомпенсация рабочих трат креатинфосфата и гликогена.

Ленинградский научно-исследовательский институт физической культуры

Поступило
27 VII 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. Р. Чаговец, Физиол. журн. СССР, т. 48, 1260 (1962). ² В. П. Скулачев, Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи, Изд. АН СССР, 1962.
³ K. Cleland, Nature, v. 170, 497 (1952). ⁴ K. Cleland, E. Slater, Biochem. J., v. 53, 547 (1953). ⁵ V. Peden, J. Clin. Invest., v. 69, 332 (1964). ⁶ M. Klingenberg, H. von Häfen, Biochem. Zs., B. 337, 120 (1963). ⁷ Н. Р. Чаговец, Л. Г. Лешкевич, Вопр. мед. хим., т. 20, 416 (1974). ⁸ Н. Р. Чаговец, Укр. биохим. журн., т. 29, 450 (1957). ⁹ Н. Р. Чаговец, ДАН, т. 207, 739 (1972). ¹⁰ Н. Р. Чаговец, В кн. Митохондрии. Структура и функция в норме и патологии, «Наука», 1971, стр. 140. ¹¹ М. Н. Кондрашова, там же, стр. 24. ¹² B. Chance, G. Williams, Adv. Enzymol., v. 17, 65 (1956). ¹³ M. Gutman, E. Kearney, T. Singer, Biochem. Biophys. Res. Commun., v. 42, 1016 (1971). ¹⁴ U. Rasmussen, FEBS Letters, v. 19, 239 (1971). ¹⁵ М. Н. Кондрашова, Н. Р. Чаговец, ДАН, т. 198, 243 (1971). ¹⁶ Л. Г. Лешкевич, Матер. X Всесоюз. научн. конфер. по физиол., морфол., биомех. и биохимии мышечн. деятельности, т. 2, М., 1968, стр. 103. ¹⁷ T. König, D. Nicholls, P. Garland, Biochem. J., v. 114, 589 (1969).