

Академик АН УзССР Я. Х. ТУРАКУЛОВ, М. Х. ГАЙНУТДИНОВ,
А. А. АБИДОВ, Р. С. САЛИХОВ, Л. Р. ХАЛМАТОВА

О ПРИРОДЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ ИНТАКТНЫМИ И ПОВРЕЖДЕННЫМИ ТИРОКСИНОМ МИТОХОНДРИЯМИ

Митохондрии в клетке гетерогенны, причем структурная и функциональная гетерогенность увеличивается, когда ткань попадает в неблагоприятные условия (¹, ²). Электронная микроскопия показывает, что при многих патологических состояниях, в том числе и при тиреотоксикозе, в клетке одновременно находятся и сильно набухшие митохондрии, явно утратившие функцию синтеза АТФ, и достаточно интактные митохондрии (¹, ²). Исходя из этого, большой интерес представляет изучение влияния «поврежденных» митохондрий на функционирование интактных митохондрий.

В этой работе в опытах с изолированными митохондриями печени крыс моделировались «взаимодействия» между интактными и «поврежденными» митохондриями. Методическая часть работы описана ранее (³).

Повреждающим агентом в наших опытах служил тироксин в относительно высоких концентрациях. Митохондрии печени крысы (1,5 мг белка в 1 мл среды инкубации) преинкубировали в течение 20 мин. в присутствии 10^{-5} M тироксина. Состав среды инкубации тот же, что и на рис. 2, но без $MgCl_2$. Затем суспензию митохондрий центрифугировали на холоду при 10 000 g и надосадочную жидкость использовали как среду инкубации для измерения транспорта ионов Ca^{2+} во вновь добавленные интактные митохондрии. В контроле использовалась исходная среда инкубации. Перед введением митохондрий и в контроле, и в опыте добавляли 1 mM $MgCl_2$. При добавлении $CaCl_2$ к суспензии митохондрий (4 мг белка в 1 мл) происходит транспорт ионов Ca^{2+} в митохондрии в обмен на ионы H^+ . По окончании поглощения ионов Ca^{2+} митохондрии в течение некоторого времени способны поддерживать градиенты ионов Ca^{2+} и H^+ на мембране, после чего начинается так называемый «самопроизвольный» выход ионов Ca^{2+} из митохондрий. Когда в качестве среды инкубации служила надосадочная жидкость суспензии митохондрий, преинкубированных с тироксином, несколько увеличивалась скорость транспорта Ca^{2+} и сильно увеличился промежуток времени, в течение которого митохондрии поддерживали градиенты ионов Ca^{2+} и H^+ . В аналогичном опыте увеличивалось и максимальное количество ионов Ca^{2+} , которое может быть связано митохондриями. Было высказано предположение, что при набухании митохондрий, индуцированных тироксином, в среду инкубации выходит фактор, способный оказывать стабилизирующее влияние на мембрану интактных митохондрий. Была сделана попытка выделить и частично очистить этот фактор.

Митохондрии печени кролика (14 мг белка в 1 мл) преинкубировали в 0,1 M KCl+0,01 M трис, pH 6,35, 30 мин. в присутствии $6 \cdot 10^{-5}$ M тироксина. Затем суспензию митохондрий центрифугировали 20 мин. при 10 000 g. Надосадочную жидкость нагревали в течение 20 мин. при 95° и подвергали повторному центрифугированию. Надосадочную жидкость № 2, содержащую 0,15 мг белка в 1 мл, концентрировали на роторном испарителе в 15 раз и наносили в количестве 2 мл на колонку сефадекса G-50 (45×1,2 см) и элюировали в 0,1 M KCl+0,01 M трис, pH 6,35. В полученных фракциях измеряли оптическую плотность.

Получили три четких пика оптической плотности при $\lambda=280$ нм (рис. 1). Активность обнаружена в третьем пике. Наибольшей активностью обладала фракция № 18. На рис. 2 показано действие этой фракции на транспорт ионов Ca^{2+} (рис. 2а) и дыхание митохондрий (рис. 2б). В ее присутствии увеличивалась скорость транспорта ионов Ca^{2+} в митохондрии и способность поддерживать градиент ионов Ca^{2+} . Несколько уменьшалась скорость дыхания во 2-м состоянии по Чансу и в 4-м состоянии, когда

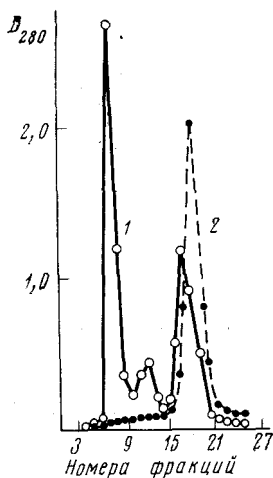


Рис. 1

Рис. 1. Сефадекс-гель-фильтрация «секрета» митохондрий, очищенного нагреванием при 95° . На колонку сефадекс G-50 добавляли 2 мл «секрета», содержащего 2,25 мг белка в 1 мл. Фракции по 3,0 мл. 1 — D_{280} , 2 — активность

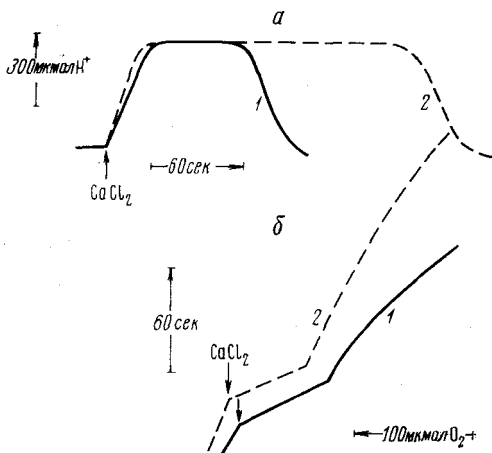


Рис. 2

Рис. 2. Влияние фактора из «поврежденных» тироксином митохондрий на транспорт ионов Ca^{2+} и дыхание митохондрий. В среде инкубации присутствовали: сукцинат $5 \cdot 10^{-3}$ M, фосфат $2 \cdot 10^{-3}$ M, ротенон 0,5 мкг/мл, MgCl_2 4,0 M, KCl 0,1 M, трис 10^{-2} M pH 6,35, митохондрии (4 мг белка в 1 мл). а — добавки: фактор (0,15 мл фракции № 18 после колонки сефадекс G-50), CaCl_2 $5 \cdot 10^{-4}$ M; б — добавки: фактор (0,15 мл фракции № 18), CaCl_2 $4 \cdot 10^{-4}$ M. 1 — контроль, 2 — добавлен фактор

весь Ca^{2+} находится в митохондриях. Следовательно, фактор обладает сопрягающим «эффектом» на митохондрии. Таким образом, из «поврежденных» тироксином митохондрий в среду инкубации выходит фактор, который может стабилизировать мембрану интактных митохондрий и увеличивать дыхательный контроль при добавлении кальция. По-видимому, действие тироксина неспецифично, так как сходные результаты получены при «повреждении» митохондрий ионами кальция (3).

Фактор термостабилен и по данным сефадекс-гель-фильтрации обладает, по-видимому, относительно небольшим молекулярным весом. Известно, что в цитоплазме печени обнаружен фактор, обладающий сходными свойствами и стабилизирующим эффектом на митохондрии (4). Возможно, что наш фактор и ЦМФ (цитоплазматический метаболический фактор) идентичны и локализованы в норме в основном в митохондриях.

Институт биохимии
Академии наук УзССР
Ташкент

Поступило
3 VII 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ B. F. Trump, P. J. Goldblatt, P. F. Stowell. Lab. Invest., v. 14, 343 (1965). ² P. B. Herdson, J. P. Kallenbach, R. B. Lennings, Am. J. Pathol., v. 57, 539 (1969). ³ М. X. Гайнугдинов, В сб.: Биология и научно-технический прогресс, Пушчино, 1974, стр. 183. ⁴ H. H. Loh, P. Voljin, E. R. Kun, Biochemistry, v. 7, 726 (1968).