

УДК 636:576.2

Б. В. Смолянинов

ИЗУЧЕНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В МИТОХОНДРИЯХ ТКАНЕЙ СВИНЕЙ ПРИ ВВЕДЕНИИ ГОРМОНАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Изучение регуляторных механизмов действия тропных гормонов, эстрогенов и простагландинов применительно к продуктивным животным позволит решить целый ряд актуальных вопросов, связанных с нарушением воспроизводительной функции, синхронизацией половых циклов, выяснением причин зиготной и эмбриональной смертности. За последнее время достигнут значительный успех в области регуляции эструса и овуляции у животных с помощью гонадотропинов, эстрогенов, прогестагенов и их синтетических аналогов [1, 7]. Тем не менее, для использования гормональных препаратов с целью воздействия на половую функцию и разработки более совершенных способов стимуляции и синхронизации охоты и овуляции у самок сельскохозяйственных животных необходимо четкое представление о механизме действия гормонов и их предшественников на организм животного и органы-мишени.

Установлено, что тропные гормоны [8] и простагландины [12] активируют в мембранах аденилкиназную систему, повышая уровень циклической АМФ. Доказана также роль циклической АМФ в механизме действия стероидных гормонов [6]. Хорошо известно, что гонадотропины и эстрогены влияют на активность целого ряда цитоплазматических ферментов, повышая скорость обмена глюкозы [4]. Предыдущие наши исследования [5] показали, что сывороточный гонадотропин, введенный в отдельности и в сочетании с эстрогенами и витаминами, способствует стимуляции эструса и усилению окислительно-восстановительных процессов в гомогенатах и митохондриях эндометрия свинок. Известно также [11], что половые стероиды увеличивают потребление кислорода тканью тестикулов крыс. В то же время в литературе нет данных о влиянии эстрогенов, простагландинов и их предшественников на окислительные процессы в митохондриях тканей-мишеней сельскохозяйственных животных.

Мы изучали влияние комплексного гормонально-витаминного препарата, изготовленного по отработанной в институте технологии, а также его составных: синтетического эстрогена-диэтилстильбэстрола, предшественника простагландина — арахидоновой кислоты и отдельных витаминов на окислительное фосфорилирование в митохондриях ткани печени и эндометрия неполовозрелых свинок.

Методика исследований

Опыты проведены на 20 трехмесячных свинках крупной белой породы, принадлежащих подопытному хозяйству института «Чишки». За три дня до зрелости свинок, разделенным на отдельные группы вводили: комплекс витаминов А, Д₃, Е (тривитамин) по 1 мл на голову, арахидоновую кислоту (11%) по 1 мл, диэтилстильбэстрол (ДЭС) по 125 мкг и комплекс указанных препаратов в тех же дозах. Свинкам контрольной группы препаратов не вводили. Использовали однократные инъекции указанных препаратов,

поскольку в производственных условиях при однократном введении комплексного препарата на второй-третий день возникала половая охота и овуляция. После забоя свинок извлеченные органы помещали на холод, матку и яичники взвешивали, измеряли толщину и длину рогов, подсчитывали количество фолликулов в яичнике.

Из гомогенатов ткани печени и эндометрия, методом дифференциального центрифугирования выделяли митохондриальную фракцию, которую дважды промывали в среде выделения (0,3 М сахаразы, 0,01 М трис-буфер, 0,001 М ЭДТА, pH — 7,4), взвес митохондрий готовили в такой же среде. Чистоту выделенных митохондрий контролировали на электронном микроскопе. Окислительное фосфорилирование изучали полярографическим методом. Поглощение кислорода митохондриями регистрировали на полярографе ЛП-7 с помощью платинового электрода [3]. Среда инкубации состояла из 4 ммоль KH_2PO_4 , 2 ммоль MgCl_2 , 100 ммоль KCl , 4 ммоль трис-буфера, 50 ммоль сахаразы, 2 ммоль сукцината натрия, 0,06 мл суспензии митохондрий (1,5—3 мг белка). Об интенсивности фосфорилирования судили по усилению дыхания после добавления АДФ (активное состояние или V_3). Состояние митохондрий после истощения АДФ, когда АДФ переходит в АТФ, отмечали как состояние покоя или V_4 . Отношение V_3 к V_4 является дыхательным контролем (ДК), согласно Чансу [9]. Состояние разобщенного дыхания измеряли после добавления разобщителя динитрофенола ($V_{\text{ДНФ}}$). В митохондриях также определяли активность сукцинатдегидрогеназы [2], Mg-зависимой и ДНФ-активируемой аденозинтрифосфатазы (АТФ-азы), в гомогенатах ткани матки и яичника определяли уровень аскорбиновой кислоты. Концентрацию белка митохондрий определяли по Лоури [10].

Результаты исследований

В табл. 1 приведены результаты изменения веса матки и яичников свинок контрольной группы и свинок, которым вводили гормональные препараты. Из этой таблицы видно, что вес матки увеличивается только в результате введения ДЭС и комплексного препарата, в который входит ДЭС (с 21,8 г у контрольных животных до 41,7 и 44,2 г у свинок, которым вводили ДЭС и комплексный препарат соответственно). Введение тривитамина и арахидоновой кислоты не приводило к изменению веса матки. Увеличение веса матки у свинок под влиянием ДЭС — хорошо известный факт, связанный с увеличением пролиферативных и митотических процессов в эндометрии и миометрии и сопровождающийся их набуханием. Увеличение веса матки свинок, получавших комплексный препарат, происходило, по-видимому, под влиянием ДЭС, входящего в вводимый препарат, хотя тривитамин и арахидоновая кислота до некоторой степени усиливают воздействие ДЭС, так как увеличение веса матки под влиянием комплексного препарата было более отчетливым, чем в результате введения только ДЭС. Вместе с увеличением веса мат-

Таблица 1

Вес (г) матки и яичников свинок под влиянием гормональных препаратов

Орган	Статистические показатели	Контроль	Группы свинок			
			Тривитамин	Арахиден	ДЭС	Комплекс
Матка	M	21,8	21,0	24,6	41,7	44,2
	$\pm m$	5,28	7,7	6,19	6,24	7,68
	p		>0,5	>0,5	<0,05	<0,05
Яичник правый	M	1,75	1,93	1,36	2,17	1,28
	$\pm m$	0,43	0,15	0,27	0,19	0,49
	p		>0,5	>0,2	>0,1	>0,5
Яичник левый	M	1,65	1,83	1,45	2,33	1,35
	$\pm m$	0,39	0,12	0,34	0,39	0,47
	p		>0,5	>0,5	>0,5	>0,5

ки увеличивается диаметр и длина рогов матки, при этом не установлено закономерных изменений веса яичников и увеличения числа созревающих в них фолликулов.

В табл. 2—4 приведены результаты исследования окислительного фосфорилирования в митохондриях ткани печени и эндометрия свинок, а также активности митохондриальных ферментов. Введение тривитамина способствовало усилению поглощения кислорода митохондриями ткани печени в активном состоянии (V_3) и состоянии покоя (V_4), при этом величина ДК не изменялась по сравнению с контрольными свинками. Введение арахидоновой кислоты несколько снижало скорость активного дыхания и дыхания в состоянии покоя митохондрий ткани печени и эндометрия, и при этом способствовало увеличению ДК, что свидетельствует об увеличении окислительного фосфорилирования в митохондриях. Более заметное увеличение фосфорилирования в митохондриях ткани печени и матки наблюдалось при введении ДЭС и комплекс-

Таблица 2

Окислительное фосфорилирование в митохондриях ткани печени свинок,
в мккатом О/(мин·мг белка)

Изучаемые показатели	Статистические показатели	Контроль	Тривитамин	Арахиден	ДЭС	Комплекс
V_3	<i>M</i>	41,5	56,6	37,8	47,2	60,3
	$\pm m$	7,1	5,34	1,69	3,92	2,32
	<i>p</i>		$>0,05$	$>0,5$	$>0,5$	$<0,05$
V_4	<i>M</i>	19,5	30,5	13,7	13,4	17,4
	$\pm m$	1,80	5,43	0,64	0,94	0,97
	<i>p</i>		$>0,05$	$<0,05$	$>0,05$	$>0,2$
$V_{\text{ДНФ}}$	<i>M</i>	50,9	50,5	28,9	24,8	33,3
	$\pm m$	4,25	4,32	3,00	2,41	1,78
	<i>p</i>		$>0,5$	$<0,05$	$<0,05$	$<0,05$
ДК	<i>M</i>	2,08	1,96	2,53	3,23	3,39
	$\pm m$	0,22	0,03	0,17	0,27	0,16
	<i>p</i>		$>0,05$	$>0,1$	$<0,01$	$<0,001$

Таблица 3

Окислительное фосфорилирование в митохондриях эндометрия свинок,
в мккатом О/(мин·мг белка)

Изучаемые показатели	Статистические показатели	Контроль	Тривитамин	Арахиден	ДЭС	Комплекс
V_3	<i>M</i>	83,6	70,7	67,8	93,2	102,0
	$\pm m$	7,40	7,13	3,32	11,3	10,3
	<i>p</i>		$>0,2$	$>0,05$	$>0,2$	$>0,05$
V_4	<i>M</i>	34,0	34,2	31,3	29,0	36,4
	$\pm m$	3,33	2,42	2,85	2,32	2,25
	<i>p</i>		$>0,5$	$>0,5$	$>0,5$	$>0,05$
$V_{\text{ДНФ}}$	<i>M</i>	55,1	52,4	52,2	49,4	48,6
	$\pm m$	5,50	4,30	5,12	4,44	3,61
	<i>p</i>		$>0,5$	$>0,5$	$>0,05$	$>0,05$
ДК	<i>M</i>	2,14	1,98	2,43	2,69	2,74
	$\pm m$	0,14	0,10	0,18	0,25	0,31
	<i>p</i>		$>0,5$	$>0,1$	$>0,05$	$>0,05$

Таблица 4

Активность сукцинатдегидрогеназы и АТФазы митохондрий эндометрия свинок

Активность фермента	Статистические показатели	Контроль	Тривитамин	Арахиден	ДЭС	Комплекс
СДГаза (усл. ед./мг белка)	<i>M</i>	18,2	23,4	27,3	56,5	71,1
	$\pm m$	4,13	3,42	4,29	3,68	8,29
	<i>p</i>		>0,5	>0,2	<0,001	<0,001
АТФаза М-зависимая (мкмоль Р/мг белка)	<i>M</i>	0,322	0,733	1,600	0,603	0,605
	$\pm m$	0,12	0,26	0,20	0,03	0,05
	<i>p</i>		0,2	0,01	0,5	0,05
АТФаза ДНФ-активируемая (мкмоль Р/мг белка)	<i>M</i>	0,170	0,700	1,550	0,650	0,710
	$\pm m$	0,034	0,11	0,05	0,06	0,15
	<i>p</i>		>0,02	<0,001	<0,01	<0,02

ного препарата. Как видно из табл. 2 и 3, эти препараты интенсивно повышали поглощение кислорода в активном состоянии и снижали скорость дыхания в состоянии покоя, заметно повышая ДК, что было наиболее заметно в митохондриях ткани печени (табл. 2). Интенсификация сопряженного дыхания сопровождается одновременным снижением скорости разобщенного дыхания (после добавления ДНФ), т. е. энергия, вырабатываемая митохондриями, при введении ДЭС и комплексного препарата использовалась, в основном, для биосинтеза. Это согласуется с усилением пролиферативных и биосинтетических процессов в эндометрии.

Вместе с усилением окислительного фосфорилирования в митохондриях эндометрия животных, получавших ДЭС и комплексный препарат, отмечалось повышение активности сукцинатдегидрогеназы. Повышение активности этого фермента при введении тривитамина и арахидоновой кислоты было менее отчетливым (табл. 4). Не установлено закономерных изменений активности сукцинатдегидрогеназы в митохондриях ткани печени свинок. Вводимые препараты в разной мере влияли на активность АТФаз. Причем изменения их активности согласуются с изменениями окислительного фосфорилирования. Как видно из табл. 4, все вводимые препараты повышали активность Mg-зависимой и ДНФ-активируемой АТФазы, однако в том случае, когда окислительное фосфорилирование было более интенсивным, наблюдалось менее отчетливое, хотя подчас и достоверное увеличение активности АТФаз (свинки, получавшие ДЭС и комплекс). Введение арахидоновой кислоты интенсивно повышало активность как Mg-зависимой, так и ДНФ-активируемой АТФазы в митохондриях ткани печени и более отчетливо — в митохондриях эндометрия, что, по-видимому, связано с влиянием арахидоновой кислоты на проницаемость мембран митохондрий. Тот факт, что активация АТФазы под влиянием введенной ненасыщенной жирной кислоты происходит в эндометрии, дает возможность предположить, что матка является органом, в котором арахидоновая кислота интенсивно превращается в простагландин.

Все вводимые препараты повышали концентрацию аскорбиновой кислоты в ткани матки и яичника свинок, причем тривитамин и ДЭС действовали более отчетливо, чем арахидоновая кислота и комплексный препарат (табл. 5).

На основании проведенных исследований можно заключить, что вводимый комплексный гормонально-витаминный препарат и ДЭС повы-

Таблица 5
Содержание аскорбиновой кислоты в матке и яичнике свинок (мкг/г ткани)

Исследуемый орган	Статистические показатели	Контроль	Тривитамин	Арахиден	ДЭС	Комплекс
Матка	<i>M</i>	140,0	212,5	193,0	255,0	176,0
	$\pm m$	13,6	28,2	8,9	22,2	30,7
	<i>p</i>		>0,05	<0,05	<0,01	>0,2
Яичник	<i>M</i>	217,0	287,0	226,0	292,0	241,0
	$\pm m$	17,9	18,9	29,0	28,3	12,1
	<i>p</i>		<0,05	>0,5	<0,05	>0,2

шают сопряженное с фосфорилированием дыхание митохондрий эндометрия свинок, что может быть связано с усилением биосинтетических процессов и гипертрофией миометрия. Арахидоновая кислота влияет на мембранные процессы в митохондриях эндометрия, что выражалось в активации митохондриальных АТФаз. Полученные данные хорошо согласуются с четким стимулирующим и синхронизирующим половые процессы эффектом, полученным при производственном испытании комплексного гормонально-витаминного препарата на свиноматках и кролематках, содержащихся в условиях современных сельскохозяйственных комплексов.

Литература

1. Андерсон Л. Л., Мелампи Р. М. Факторы, влияющие на уровень овуляции у свиней.— В кн.: Современные проблемы свиноводства, М., «Колос», 1977, с. 286—327.
2. Гулидова Г. П., Сорокина И. Н. Некоторые условия спектрометрического определения активности сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы в митохондриях мозга.— Бюл. эксперим. биол. и мед., 1967, № 1, с. 41—43.
3. Мацынин В. В. К вопросу об изготовлении и контроле качества открытых платиновых электродов для хроноамперометрического определения кислорода в биохимических исследованиях.— Полярнографическое определение кислорода в биологических объектах, Киев, 1968, с. 64—69.
4. Савченко О. Н. Гормоны яичника и гонадотропные гормоны. Л., 1967. 270 с.
5. Смолянинов Б. В. Энергетические процессы в отдельных органах и тканях свиней при стимуляции гонадотропином.— Сельскохозяйственная биология, 1976, 11, № 5, с. 744—748.
6. Сергеев П. В., Сейфулла Р. Д., Майский А. И. Молекулярные аспекты действия стероидных гормонов, М., «Наука», 1971. 220 с.
7. Anderson L. I., Schultz I. R., Melampy R. M. Gonadotrophins, their chemical and biological properties and secretory control. San Francisco, 1964. 171 p.
8. Dorrington J., Fritz I. Effect of gonadotrophins on cyclic AMP production by isolated seminiferous tubule and interstitial cell preparations.— Endocrinology, 1974, 94, p. 395—403.
9. Chance B., Williams G. Kinetics of oxygen utilisation.— J. Biol. Chem., 1955, 217, p. 383—393.
10. Louvy O., Rosenbrough N. e. a. Protein measurement with The Folin phenol reagent.— J. Biol. Chem., 1951, 193, p. 265—275.
11. Steinberger E. Hormonal control of mammalian spermatogenesis.— Physiol. rev., 1971, 51, p. 1—23.
12. Zenser T., DeRubertis F., Curnow R. Effects of prostaglandins on hepatic adenylate cyclase activity and cyclic adenosine 3',5',-monophosphate content.— Endocrinology, 1974, 94, p. 1404—1410.

Украинский институт физиологии и биохимии
сельскохозяйственных животных

Поступила в редакцию
24.X 1977 г.