

УДК 596—11.05

В. Д. Романенко, В. Д. Соломатина

РОЛЬ МИТОХОНДРИЙ ЖЕЛЕЗИСТЫХ ОРГАНОВ РЫБ В ОБМЕНЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ

Известно, что митохондрии являются основными внутриклеточными регуляторами кальциевого обмена в клетке. Митохондрии, выделенные из клетки печени крыс, могут накапливать в 50 с лишним раз больше кальция, чем интактные митохондрии [3]. Однако исследования роли митохондрий как регуляторов внутриклеточного обмена кальция, в основном, проведены на теплокровных животных. У водных животных, обитающих в среде с постоянно меняющимся ионным составом, эти вопросы до последнего времени почти не изучены.

Мы исследовали влияние ионных факторов на обмен кальция в митохондриях железистых органов рыб.

Методика исследований

Опыты проведены на карпах двухлетнего возраста, содержавшихся в среде с концентрацией кальция 60,0 и 200,0 мг/л. Контролем служили рыбы, выдержанные в отстоянной водопроводной воде с уровнем кальция 100 мг/л. Пониженную концентрацию кальция в аквариумах (60,0 мг/л) создавали разведением водопроводной воды дистиллированной, повышенную (200,0 мг/л) — дополнительным внесением хлористого кальция. Митохондрии из печени и жабр рыб выделяли в первые, третьи и седьмые сутки пребывания их в воде с различной концентрацией кальция. Среда выделения митохондрий содержала 0,20 М сахарозу и 0,001 М ЭДТА. Выделенные из печени рыб митохондрии содержали в 1 мл 36—40 мг белка, из жабр — 10—15 мг белка. В митохондриях железистых органов рыб определяли общий кальций методом комплексонометрического титрования [1], общий и неорганический фосфор по Кондрашовой и др. [2]. Полученные данные обработаны статистически [4].

Результаты исследований и их обсуждение

Изучение содержания кальция в митохондриях, проведенное на железистой ткани печени и жабр, выявило ряд закономерностей, характеризующих участие этих клеточных структур в механизмах адаптации рыб к изменению солевого состава среды. Так, если у рыб контрольных аквариумов содержание кальция в митохондриях печени в расчете на 1 мг белка составило 3,25—5,26 мкг, то уже в первые сутки после перенесения их в гипотоническую среду (60,0 мг/л Ca^{2+}) оно снижалось до 2,75 мкг, а к концу седьмых суток — до 1,62 мкг (табл. 1). Уменьшение содержания кальция в контроле может быть обусловлено его выведением из организма.

Аналогичные изменения наблюдались и в динамике неорганического фосфора, уровень которого в митохондриях печени снижался в первые и третьи сутки пребывания рыб в такой среде на 36,7%. При пребывании рыб в среде более низкой по концентрации кальция обнаружено также значительно меньшее его количество в митохондриях железистого аппарата жабр по сравнению с рыбами, адаптированными к высокому его содержанию (100 мг/л). Разница в содержании каль-

ция в митохондриях жаберных клеток особенно проявляется в начальный период пребывания рыб в среде с различным солевым составом. Так у рыб, пребывавших в течение суток в среде с 60,0 мг/л кальция, его содержание в митохондриях жабр было более чем в два раза ниже, чем у рыб, находившихся в среде со 100,0 мг/л кальция. В последующие семь суток пребывания карпов в воде с пониженным (60,0 мг/л) уровнем кальция его содержание в митохондриях оставалось ниже контрольного на 54%. Следует отметить, что, несмотря на столь значительное снижение кальция, в митохондриях жабр не происходило какого-либо уменьшения уровня неорганического фосфора, как это наблюдалось в печени (табл. 2). Наоборот, его содержание в митохондриях статистически достоверно превышало контрольные величины в различные сутки опыта на 30—107%. Не отмечено снижения и общего фосфора в митохондриях железистого аппарата жабр опытных рыб.

Таблица 1
Влияние различных концентраций кальция в воде на его содержание в митохондриях железистых органов рыб

Сутки опыта, концентрация кальция в воде (мг/л)	Содержание кальция (мкг/мг белка)			
	печень		жабры	
	$M \pm m$	p	$M \pm m$	p
1 сут 100 (усл. контроль)	5,26±0,22	—	8,99±0,71	—
60	2,75±0,16	<0,001	3,99±0,96	<0,05
200	4,66±0,37	>0,05	13,33±0,80	<0,05
3 сут 100 (усл. контроль)	4,08±0,52	—	9,06±1,20	—
60	2,09±0,16	<0,005	6,62±0,22	<0,001
200	8,16±0,50	<0,001	68,85±1,31	<0,001
7 сут 100 (усл. контроль)	3,26±0,49	—	5,66±0,12	—
60	1,62±0,14	<0,001	2,49±0,29	<0,001
200	3,77±0,39	>0,05	15,41±0,90	<0,01

При пребывании рыб в среде с более высокой концентрацией кальция (200,0 мг/л) наблюдаются иные изменения его содержания в митохондриях. У рыб, находившихся в среде с 200,0 мг/л Ca^{2+} уже через одни сутки в митохондриях железистого аппарата жабр содержание кальция возрастало с 8,99±0,71 до 13,33±0,81 мкг/мг белка (табл. 1). Особенно существенно его содержание в митохондриях возрастало у рыб на третьи сутки их пребывания в такой среде. При этом общее содержание кальция в митохондриях жабр увеличивалось по сравнению с контролем почти в восемь раз.

Высокое накопление кальция митохондриями свойственно не только железистому аппарату жабр, но и другим железистым образованиям рыб. Об этом может свидетельствовать резкое увеличение кальция в митохондриях, выделенных из печени рыб при семисуточном пребывании их в воде с 200,0 мг/л кальция. Следует, однако, подчеркнуть, что накопление кальция в митохондриях печеночных клеток у таких рыб было значительно менее выражено, чем в железистом аппарате жабр. Так, максимальное повышение кальция в митохондриях печени отмечено на третьи сутки пребывания рыб в среде с повышенной концентрацией кальция и составляло 8,16±0,49 мкг/мг белка по сравнению

с $4,08 \pm 0,52$ мкг/мг белка в контроле. Эти данные заслуживают особого внимания, так как у теплокровных животных даже при резком увеличении кальция в крови (внутривенная инъекция) его содержание в митохондриях железистых клеток печени возрастало лишь в пределах нескольких процентов [5].

Таблица 2
Влияние различных концентраций кальция в воде на содержание общего и неорганического фосфора в митохондриях тканей рыб

Сутки опыта, концентрация кальция (мг/л)	Печень		Жабры	
	$M \pm m$	p	$M \pm m$	p
Фосфор общий (мкг/мг белка)				
1 сут 100 (усл. контроль)	$4,99 \pm 0,37$	—	$3,64 \pm 0,60$	—
60	$6,92 \pm 0,39$	$< 0,01$	$10,82 \pm 0,42$	$< 0,001$
200	$6,83 \pm 0,92$	$> 0,05$	$8,33 \pm 1,21$	$< 0,05$
3 сут 100 (усл. контроль)	$4,32 \pm 0,36$	—	$4,62 \pm 0,50$	—
60	$4,50 \pm 0,37$	$> 0,05$	$4,40 \pm 0,45$	$> 0,05$
200	$9,76 \pm 0,46$	$< 0,05$	$15,82 \pm 0,83$	$< 0,001$
7 сут 100 (усл. контроль)	$6,98 \pm 0,31$	—	$5,50 \pm 0,38$	—
60	$6,01 \pm 0,68$	$> 0,05$	$5,23 \pm 0,77$	$> 0,05$
200	$6,10 \pm 0,42$	$> 0,05$	$9,89 \pm 1,13$	$< 0,001$
Фосфор неорганический (мкг/мг белка)				
1 сут 100 (усл. контроль)	$0,49 \pm 0,05$	—	$0,49 \pm 0,06$	—
60	$0,31 \pm 0,03$	$< 0,05$	$0,70 \pm 0,09$	$> 0,05$
200	$0,29 \pm 0,03$	$< 0,05$	$0,63 \pm 0,04$	$> 0,05$
3 сут 100 (усл. контроль)	$0,45 \pm 0,08$	—	$0,59 \pm 0,09$	—
60	$0,24 \pm 0,03$	$< 0,05$	$1,22 \pm 0,08$	$< 0,001$
200	$0,62 \pm 0,02$	$< 0,05$	$5,83 \pm 0,42$	$< 0,001$
7 сут 100 (усл. контроль)	$0,52 \pm 0,06$	—	$0,93 \pm 0,07$	—
60	$0,57 \pm 0,05$	$> 0,05$	$0,98 \pm 0,07$	$> 0,05$
200	$0,69 \pm 0,02$	$< 0,001$	$0,89 \pm 0,09$	$> 0,05$

Необходимо отметить, что с увеличением сроков пребывания рыб в среде с высоким уровнем кальция отмечаются некоторые различия его содержания в митохондриях. Так по истечении семи суток пребывания рыб в воде с концентрацией кальция, равной 200,0 мг/л, в митохондриях железистого аппарата жабр и печени содержание кальция хотя и оставалось значительно выше контрольного уровня, однако, было ниже его максимального накопления, отмеченного на третьи сутки опыта. При этом накопление кальция в митохондриях жаберных клеток превышало контрольный уровень на третьи сутки опыта в 7,5 раз, а к исходу седьмых суток эта разница составляла только 2,5 раза.

Проведенные исследования показали, что накоплению значительных количеств кальция митохондриями жабр и печени рыб соответствует резкое повышение уровня неорганического и общего фосфора (табл. 2). Так с увеличением содержания кальция в митохондриях жабр на третьи сутки опыта количество общего фосфора возросло более чем в три раза, неорганического фосфора — в девять раз. Подоб-

ная закономерность сохраняется и в показателях общего и неорганического фосфора в митохондриях печени опытных рыб.

Таким образом, тот факт, что митохондрии железистых клеток жабр и печени рыб в процессе их адаптации к повышенным концентрациям кальция в воде накапливают такие значительные его количества, свидетельствует об участии этих субклеточных структур в регуляции его внутриклеточного обмена у водных животных.

Литература

1. Гойнацкий М. Н., Непорадный Д. Д., Павлюк И. Н. Методика определения кальция и магния в биологическом материале трилонометрическим титрованием.— В кн.: Микроэлементы в медицине. К.: Здоровье, 1975, № 6, с. 17—21.
2. Кондрашова М. Н., Лесогорова М. Н., Шноль С. Э. Метод определения неорганического фосфора по спектрам поглощения молибдатных комплексов в ультрафиолете.— Биохимия, 1965, 3, № 3, с. 567—570.
3. Ленинджер А. Митохондрия. М.: Мир, 1966,— 211 с.
4. Монцевичюте-Эрингене Е. В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе.— Патол. физиол. и эксприм. терапия, 1974, № 4, с. 71—74.
5. Романенко В. Д. Физиология кальциевого обмена. К.: Наукова думка, 1975.— 171 с.

Институт гидробиологии
АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
20.VI 1978 г.

V. D. Romanenko, V. D. Solomatina

ROLE OF FISH GLANDULAR ORGANS MITOCHONDRIA IN REGULATION OF INTRACELLULAR METABOLISM OF CALCIUM

Summary

The mitochondria of fish glandular organs are shown to possess a high permeability for calcium ions and to play a very important role in its intracellular regulation. An increase of the calcium content in water (200 mg/l) sharply rises the functional activity of the gills glandular tissue, which is pronounced in accumulation of calcium ions and inorganic phosphorus.

Institute of Hydrobiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev