

УДК 577.7+636.2

Б. В. Смолянинов, О. М. Гнатышак

ИЗУЧЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ В МИТОХОНДРИЯХ ТКАНЕЙ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ

Проведенные нами ранее исследования [4, 6] на митохондриях отдельных тканей новорожденных телят показали, что окислительное фосфорилирование находится на достаточно высоком уровне и заметно не отличается от уровня взрослых животных. Исходя из того, что энергетический тканевой обмен у животных наиболее чувствителен к различным факторам в первые дни жизни, следует ожидать в этот период характерных особенностей в изменении его в органах и тканях [1]. Таким образом, изучение окислительного фосфорилирования митохондрий тканей новорожденных телят в период, когда они наиболее предрасположены к заболеваниям, становится актуальным. Кроме того, актуальной является разработка профилактических мер, включая при этом период плодоношения, для получения резистентного потомства, способного противостоять различным заболеваниям в ранний период жизни. Было показано [5], что длительная недостаточность в организме тельных коров микроэлементов приводит к рождению слабого, с пониженной сопротивляемостью молодняка. При этом нарушается обмен нуклеиновых кислот, синтез белка, ферментов, гормонов, обмен энергии в тканях и органах не только коров-матерей, но и в органах и тканях плодов.

В этой связи представляет интерес изучение влияния добавки в рацион коров в последний период стельности поликомпонентного премикса, содержащего макро-, микроэлементы и витамины на интенсивность окислительного фосфорилирования в отдельных тканях телят и сопротивляемость их к заболеваниям.

Методика исследований

Изучали влияние кратковременного (за 10—12 дней до отела) и продолжительного (за 3—4 мес до отела) скармливания премикса стельным коровам. Опыты проведены в совхозе «Билковский» Львовской области. Премикс, содержащий хлористый натрий, фосфат кальция, сернокислые соли магния, марганца, железа, цинка, кобальта, йодистый калий и витамины группы В, А, Д, Е, скармливали ежедневно с концентратами рациона коров. Рацион коров в период сухостоя состоял из грубых, сочных кормов, концентратов и был сбалансирован по перевариваемому протеину и коровьим единицам.

Для исследования отбирали по пять клинически здоровых бычков в возрасте 6—8 дней от коров, которые в рационе получали премикс (опытная группа) и от коров контрольной группы, которым не скармливали премикс. Сразу после забоя телят брали пробы ткани печени, сердечной мышцы, надпочечников и слизистой оболочки тонкого кишечника и помещали в охлажденный (0—1°C) 0,85% раствор хлористого натрия; ткани тщательно отмывали от крови в этом растворе. Гомогенаты готовили в 0,3 М растворе сахарозы с 0,02 М трис-HCl буфером и методом дифференциального центрифугирования выделяли митохондрии, как описано ранее [4, 6]. Чистоту митохондриальной фракции контролировали на электронном микроскопе. Потребление кислорода определяли на полярографе ЛП-7 с помощью открытого платинового электрода [3]. Митохондрии инкубировали в полярографической ячейке в среде, содержащей в 1 мл—4 ммоль KH_2PO_4 , 2 ммоль MgCl_2 , 100 ммоль KCl , 4 ммоль трис-буфера, 50 ммоль сахарозы, 2 ммоль сукцинат натрия, 0,05 мл суспензии митохондрий (2—3 мг белка). О степени сопряжения окисления с фосфорилированием судили по интенсивности поглощения кислорода после добавки в среду АДФ (200 мкмоль, активное состояние), которую добавляли дважды [7], и дыхательному контролю (ДК). Кроме того, в среду добавляли 2 ммоль глутамата, что давало возможность следить за интенсивностью торможения окисления янтарной кислоты (ЯК) щавелевоуксусной кислотой (ЩУК ингибирирование). Торможение окисления ЯК ЩУК [1, 2], наблюдается в митохондриях

при переходе их к тканей лаборатории состояниях. Нам ЩУК на окислен состояния митохондрий. Интенсивность на 1 мг белка митохондрий цифровые дан-

Кратковременное отражалось на отдельных тканях окисления сукцинатного кислорода при первом как у телят как у сердечной мышцы, трофальных (рисунок), надпочечника, щитовидной, кислородное различие от первого тонкого кишечника, состояния, так и интенсивность сукцинатного глощения кислорода, в то время б) интенсивность одинакова у телят, поглощают кислорода и слизистую в рационе скрывают.

Отношение дыхательного коэффициента

Ткань телят

Печень
Сердце
Надпочечник
Тонкий кишечник

Обнаружены ции глутамата, интенсивность кислорода между опытными и контролем надпочечника и синтетического митохондрий в среду усиливает определение групп характеризует. Об этом свидетельствует цината в митохондриях телят обеих групп (премикса) отношение выше единицы в

при переходе их к низкоэнергетическому состоянию и обнаруживается в митохондриях тканей лабораторных животных в первые дни жизни и при различных патологических состояниях. Нам представлялось, что количественная оценка ингибирующего действия ЩУК на окисление сукцинатов может также служить чувствительным показателем состояния митохондрий тканей новорожденных телят.

Интенсивность поглощения кислорода выражали в мкАт/мг белка/мин. Белок определяли методом Лоури [8]. Полученные цифровые данные обработаны статистически.

ОВАНИЯ Х ТЕЛЯТ

митохондриях окислительное явне и заметно того, что энергетичен к раз- в этот период тканях [1]. Таня митохондрии наиболее пред- Кроме того, ак- включая при ого потомства, ранний период есть в организме слабого, с по- ущается обмен в, обмен энер- органах и тка-

ния добавки в юментного пре- вы на интенсив- тканях телят и

и продолжитель- коровам. Опыты держащий хлори- я, железа, цинка, вали ежедневно с остоял из грубых, из протеину и кор-

ников в возрасте группы) и от коров после забоя телят лизистой оболочки раствор хлористого гената готовили в дифференциального [6]. Чистоту мито- Потребление кис- линового электрода же, содержащей в буфера, 50 ммоль (2–3 мг белка). Интенсивности погло- тивное состояние), роме того, в среду за интенсивностью кислотой (ЩУК ся в митохондриях

Результаты исследований

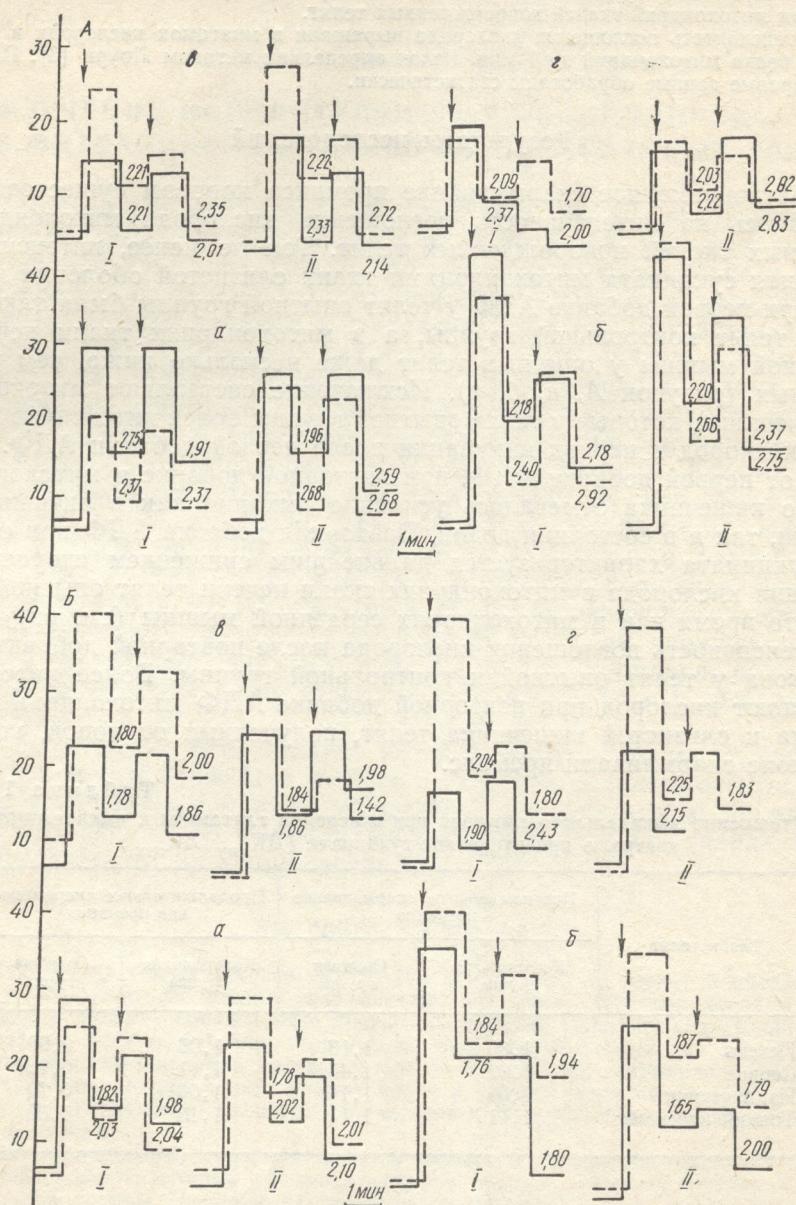
Кратковременное скармливание премикса коровам существенно не отражалось на интенсивности поглощения кислорода митохондриями отдельных тканей новорожденных телят. Тем не менее, интенсивность окисления сукцинатов митохондриями ткани слизистой оболочки кишечника при первой добавке АДФ у телят опытной группы была такой же, как у телят контрольной группы, а в митохондриях ткани печени и сердечной мышцы у опытных телят даже несколько ниже, чем у контрольных (рисунок A, a, б, г). Исключение составляют митохондрии надпочечника, которые у телят опытной группы более интенсивно поглощали кислород в период инкубации после первой добавки АДФ. В отличие от первой добавки АДФ, при повторной добавке в митохондриях тонкого кишечника отмечалось усиление дыхания как в активном состоянии, так и в состоянии покоя. Повторная добавка АДФ при окислении сукцинатов характеризуется дальнейшим снижением скорости поглощения кислорода в митохондриях ткани печени телят опытной группы, в то время как в митохондриях сердечной мышцы (см. рисунок A, б) интенсивность поглощения кислорода после повторной добавки АДФ одинакова у телят опытной и контрольной группы. Более интенсивно поглощают кислород при повторной добавке АДФ митохондрии надпочечника и слизистой кишечника телят, полученных от коров, которым в рационе скармливали премикс.

Таблица 1
Отношение дыхательного контроля при окислении глутамата к дыхательному контролю при окислении сукцинатов ($DK_{\text{глу}}/DK_{\text{сук.}}$)

Ткани телят	Кратковременное скармливание премикса		Продолжительное скармливание премикса	
	Контрольная группа	Опытная группа	Контрольная группа	Опытная группа
Печень	1,30	1,13	1,06	0,99
Сердце	1,09	1,43	1,11	0,96
Надпочечник	1,06	1,11	1,00	0,70
Тонкий кишечник	1,41	1,11	1,13	1,00

Обнаружены характерные изменения при введении в среду инкубации глутамата, который способствовал снижению разницы в поглощении кислорода митохондриями ткани печени и сердца между контрольными и опытными телятами (см. рисунок, A, a, б). В митохондриях надпочечника и слизистой оболочки тонкого кишечника введение глутамата в среду усиливало дыхание в период первой добавки АДФ у телят опытной группы. Митохондрии исследуемых тканей телят обеих групп характеризуются достаточно низким энергетическим состоянием. Об этом свидетельствует наличие ЩУК ингибирования окисления сукцинатов в митохондриях исследуемых тканей. Как видно из табл. 1, у телят обеих групп в первом опыте (кратковременное скармливание премикса) отношение DK при добавке глутамата к DK сукцинатов было выше единицы во всех исследуемых тканях, а в митохондриях слизи-

стой оболочки кишечника и сердечной мышцы оно достигает 1,41—1,43. Таким образом, добавка глутамата в среду окисления дает возможность говорить о том, что митохондрии тканей новорожденных телят



Дыхание митохондрий тканей телят при кратковременном (*A*) и продолжительном (*B*) скармливании премикса коровам.

a — печень; *b* — мышца сердца; *c* — надпочечник; *d* — слизистая кишечника, *I* — среда без глутамата; *II* — среда с глутаматом; стрелками указано добавку АДФ, цифрами — величину ДК по Чансу. По вертикали — скорость дыхания, в минуте. Сплошная линия — контроль, пунктирная — окисление кислорода в минуту.

находятся в энергетически неустойчивом состоянии, а кратковременное скармливание коровам премикса не способствует стабилизации энергетики митохондрий тканей полученных от них телят.

Более отчетливые изменения уровня окислительного фосфорилирования телят отмечаются при продолжительном скармливании поликомпонентного премикса коровам в период сухостоя. В первую очередь

Изучение окислительн

это обнаруживал надпочечника тел тканей телят опы кислорода увелич т. е. митохондрий говорит об увеличющей функции.

Влияние продолговатого мозга

Группы коров (голов)	те
Контрольная (20 голов)	
Опытная (20 голов)	

Интенсивнее 1 (см. рисунок, *B*) добавке АДФ. На хондриях ткани в фоне окисления г. рисунок, *B, a*) уходит при окислении тонкого кишечника глутамата в среду сукцината (табл. 1). Ткани слизистые лягут контрольной единицы. В митохондриях отсутствовал, так как Это может свидетельствовать о премиксе коробилизацию митохондрий низкоэнергетическое увеличивается окисление. Следовательно, существует выявлению не только у лабораторной [2], но и в мыши имеет определенное значение, может указывать на рождение телят из жвачных в раннем возрасте. Стадии становления

Наблюдения за коровами-матерями пока ведутся. Влияние на репродуктивные показатели коров в послеотельный период премикса, полученного от коров, на 5 кг больше, чем у коров, получивших премикс, характеризовавшихся в послеотельный период. Следует отметить, что утверждение о том, что премикс, полученный от коров, на 5 кг больше, чем у коров, получивших премикс, характеризовавшихся в послеотельный период.

это обнаруживалось в митохондриях слизистой оболочки кишечника и надпочечника телят. Как видно из рисунка *B*, в митохондриях этих тканей телят опытной группы при окислении сукцината поглощение кислорода увеличивается при первичной и повторной добавках АДФ, т. е. митохондрии этих тканей более интенсивно окисляют сукцинат, что говорит об увеличении их окислительной способности и фосфорилирующей функции.

Таблица 2

Влияние продолжительного скармливания премикса коровам на живую массу и резистентность полученных от них телят

Группы коров (голов)	Получено телят (голов)	Живая масса при рождении, кг	Заболело с признаками диспепсии	Продолжительность заболевания	Пало
Контрольная (20 голов)	20	37	11	5—8 дней	1
Опытная (20 голов)	20	42	4	1—2 дня	—

Интенсивнее поглощают кислород митохондрии сердечной мышцы (см. рисунок, Б) телят опытной группы, что отмечается при повторной добавке АДФ. Не изменяется уровень поглощения кислорода в митохондриях ткани печени при окислении сукцинатов, в то время как на фоне окисления глутамата поглощение кислорода увеличивается (см. рисунок, Б, а) у телят опытной группы. Аналогичное увеличение происходит при окислении глутамата в митохондриях сердечной мышцы, тонкого кишечника и надпочечника (см. рисунок, Б, б, в, г). Добавка глутамата в среду инкубации заметно снижает торможение окисления сукцинатов (табл. 1). Это в первую очередь наблюдается в митохондриях ткани слизистой оболочки кишечника, печени и мышцы сердца телят контрольной группы, где коэффициент $DK_{\text{глу}}/DK_{\text{сук}}$ был выше единицы. В митохондриях тканей телят опытной группы этот эффект отсутствовал, так как коэффициент $DK_{\text{глу}}/DK_{\text{сук}}$ был ниже единицы. Это может свидетельствовать о том, что продолжительное скармливание премикса коровам, по всей вероятности, оказывает влияние на стабилизацию митохондриальных мембран и предохраняет их переход к низкоэнергетическому состоянию, в результате чего в отдельных тканях увеличивается окислительная способность и фосфорилирующая функция. Следовательно добавка глутамата в инкубационную среду способствует выявлению эффекта ингибирования окисления сукцинатов ЩУК не только у лабораторных животных, что было показано Кондрашовой [2], но и в митохондриях некоторых тканей телят. Этот эффект имеет определенное значение для биологии с.-х. животных, так как может указывать на низкоэнергетическое состояние митохондрий новорожденных телят и дополняет наши знания по механизму адаптации жвачных в раннем постнатальном периоде, когда этот механизм находится в стадии становления.

Наблюдения за клиническим состоянием новорожденных телят и коров-матерей показало, что введение в рацион коров премикса оказывает влияние на резистентность телят и воспроизводительную функцию коров в послеотельный период. Как видно из табл. 2, скармливание коровам премикса приводило к повышению живой массы телят; телята, полученные от коров опытной группы, имели живую массу в среднем на 5 кг больше, чем телята контрольной группы. Телята опытной группы меньше заболевали с признаками диспепсий, а если заболевание возникало, то оно протекало менее остро. Коровы, получавшие премикс, характеризовались лучшими воспроизводительными качествами в послеотельный период. Таким образом, на основании полученных данных можно утверждать, что введение в рацион коров в последние ме-

сяцы стельности ряда солей макро-, микроэлементов и витаминов положительно отражается на потомстве и воспроизводительной функции коров.

B. V. Smolyaninov, O. M. Gnatyshak

STUDIES OF OXIDATIVE PHOSPHORYLATION IN TISSUE MITOCHONDRIA OF NEWBORN CALVES

Summary

Oxidative phosphorylation in the liver, cardiac muscle, adrenal gland and small intestine mucosa mitochondria was studied in calves from cows which received the premix containing diet in the last phase of pregnancy. A short-term administration of the premix to cows had no marked effect on oxidative phosphorylation of the tissue mitochondria in newborn calves. A more prolonged administration of the premix promoted intensification of oxidative phosphorylation in mitochondria of all investigated tissues. It is shown that succinate oxidation is inhibited by oxalacetic acid in tissue mitochondria of newborn calves which received no premix. Long-term administration of the premix to pregnant cows increased the calves resistance to diseases.

Ukrainian Research Institute of Physiology and Biochemistry of Farm Animals. Lvov

Список литературы

- Кондрашова М. Н. Накопление и использование янтарной кислоты в митохондриях.— В кн.: Митохондрии. Молекулярные механизмы ферментативных реакций. М., 1972, с. 151—170.
 - Кондрашова М. Н., Ананенко А. А. Обследование состояния выделенных митохондрий.— В кн.: Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом. М., 1973, с. 106—129.
 - Мацинин В. В. К вопросу об изготовлении и контроле качества открытых платиновых электродов для хронаметрического определения кислорода в биохимических исследованиях.— В кн.: Полярографическое определение кислорода в биологических объектах. Киев, 1968, с. 64—69.
 - Розгоні І. І., Смолянінов Б. В. Окисне фосфорилювання у мітохондріях тканин телят в перші дні після народження.— В кн.: Фізіологія і біохімія сільсько-господарських тварин. К., 1971, с. 53—55.
 - Самохін В. Т., Таранов М. Т., Винокуров Л. В. и др. Роль микроэлементов в этиопатогенезе диспепсий.— В кн.: Профилактика и лечение заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных. М., 1974, с. 205—209.
 - Смолянінов Б. В., Розгоні І. І., Дубинка В. І. Окисне фосфорилювання мітохондрій в тканинах телят в перші дні життя.— Вісн. с.-г. науки, 1976, № 7, с. 65—69.
 - Cance B., Williams G. Kinetics of oxygen utilisation.— J. Biol. Chem., 1955, 217, N 1, p. 383—393.
 - Lovry O., Rosebrough N., Farr A. et al. Protein measurement with Folin phenol reagent.— J. Biol. Chem., 1951, 193, N 1, p. 265—275.

Украинский институт физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных, Львов

Поступила в редакцию
16.V 1980 г.

УДК 616.316.002:615.355

ВЛИЯНИ НА АКТИВНС ЖЕЛ ТІ

Из большого
лей, наибольшее
также их ингиб-
ции слюнных же-
менения. Имею-
мотрипсина для
ров трипсина д.

Мы изучали
риментального
ментными препа

Исследования 180 г. В I серии (8-ингибитор трипсина) желез или дистант посредством травмы срединный разрез в подчелюстные железы, у которого минимизирует равномерное. Ложе железы засыпано логические явления засыпались резкой отеком, обильным

некроза, болевым
Ферментные
травматизации жел-
тальным субмакси-
внутримышечного).
вали на торзопони-
сырого веса железы
2000 г в течение
жидкость. Опреде-
БАЭ (бензоил-ар-
нию казеина при
рН 3,5, активность
фата при pH 10,5
ранее описанным
народного биохим-
тическую активнос-
виях, оптимальный
в нкат/кг сырого в
определяли методом

в динамике разви-
ности гнойных ос-
сушки в течение се-
циллина, 0,5 г стр-
воды. Трипсин вво-
дится в виде ингибитора трипсина
область подчелюст-
ных микробных фермен-
таторов в р-
растворенных в р-
0,5 мл. Крысам к-