

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 кормовым 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 °С) 0,85 % раствор хлористого натрия; ткань тщательно отмывали от крови в этом растворе. Гомогенаты готовили в 0,3 М растворе сахарозы с 0,02 М трис-НСI 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  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2 ммоль  $\text{MgCl}_2$ , 100 ммоль  $\text{KCl}$ , 4 ммоль трис-буфера, 50 ммоль сахарозы, 2 ммоль сукцината натрия, 0,05 мл суспензии митохондрии (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 ингибирование). Торможение окисления ЯК ЩУК [1, 2], наблюдается в митохондриях

при переходе их к  
тканей лабораторн  
состояниях. Нам  
ЩУК на окислен  
состояния митохон  
Интенсивност  
на 1 мг белка мит  
ные цифровые дан

Кратковреме  
отражалось на  
отдельных ткан  
окисления сукци  
ника при перво  
как у телят ко  
сердечной мыш  
трольных (рису  
надпочечника, и  
щали кислород  
личие от первой  
тонкого кишечн  
стоянии, так и  
нии сукцината  
глощения кисло  
пы, в то время  
б) интенсивност  
одинакова у те  
поглощают кисл  
чечника и слизи  
в рационе скарм

Отношение д  
к

Ткани телят

Печень  
Сердце  
Надпочечник  
Тонкий кишеч

Обнаружены  
ции глутамата, и  
нии кислорода м  
ными и опытным  
надпочечника и с  
мата в среду уси  
лят опытной гру  
групп характериз  
Об этом свидетел  
цината в митохон  
телят обеих групп  
микса) отношении  
выше единицы во

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 сукцината может также служить чувствительным показателем состояния митохондрий тканей новорожденных телят.

Интенсивность поглощения кислорода выражали в мкатомах кислорода в расчете на 1 мг белка митохондрий за 1 мин. Белок определяли методом Лоури [8]. Полученные цифровые данные обработаны статистически.

ОВАНИЯ  
Х ТЕЛЯТ

митохондриях окислительное овне и заметно того, что энергителен к раз в этот период канях [1]. Та ния митохонд наиболее пред (роме того, ак включая при ого потомства, ранний период ость в организ слабого, с по ушается обмен в, обмен энер органов и тка ния добавки в онентного пре ы на интенсив канях телят и

и продолжитель коровам. Опыты одержащий хлори а, железа, цинка, ввали ежедневно с остоял из грубых, у протенну и кор чков в возрасте руппа) и от коров осле забоя телят лизистой оболочки аствор хлористого генаты готовили в дифференциального 6]. Чистоту мито- Потребление кис нинového электрода де, содержащей в буфера, 50 ммоль и (2—3 мг белка). тенсивности погло нное состояние), оме того, в среду а интенсивностью кислотой (ЩУК а в митохондриях

Результаты исследований

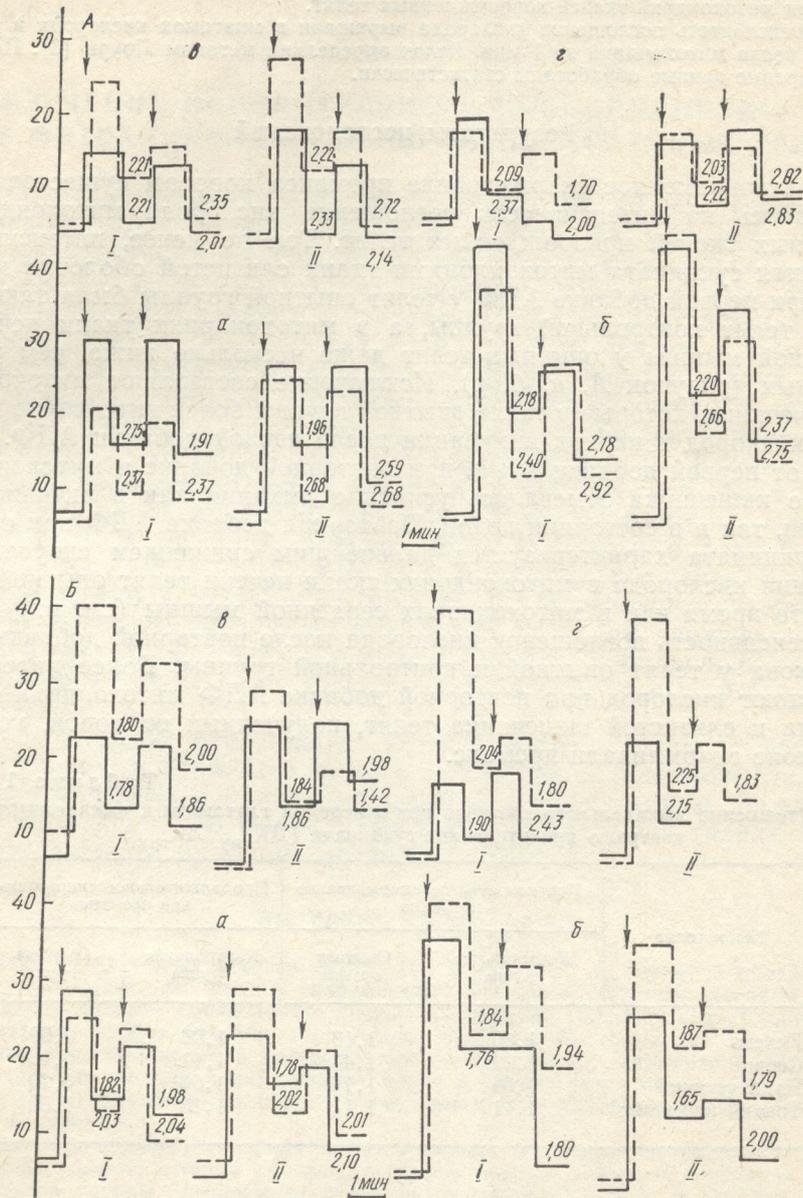
Кратковременное скармливание премикса коровам существенно не отразилось на интенсивности поглощения кислорода митохондриями отдельных тканей новорожденных телят. Тем не менее, интенсивность окисления сукцината митохондриями ткани слизистой оболочки кишечника при первой добавке АДФ у телят опытной группы 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 А, а, 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 сукцината характеризуется дальнейшим снижением скорости поглощения кислорода в митохондриях ткани печени телят опытной группы, в то время как в митохондриях сердечной мышцы (см. рисунок А, 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 сукцината ( $DK_{\text{глу.}}/DK_{\text{сук.}}$ )

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, А, а, 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 сукцината в митохондриях исследуемых тканей. Как видно из табл. 1, у телят обеих групп в первом опыте (кратковременное скармливание премикса) отношение ДК при добавке глутамата к ДК сукцината 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 (А) и продолжительном (Б) скормливания премикса коровам.

*а* — печень; *б* — мышца сердца; *в* — надпочечник; *г* — слизистая кишечника, I — среда без глутамата; II — среда с глутаматом; стрелками указано добавку АДФ, цифрами — величину ДК по Чансу. По вертикали — скорость дыхания, в мл/мин. Сплошная линия — контроль, пунктирная — опыт.

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

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

это обнаруживало надпочечника тел тканей телят опы кислорода увелич т. е. митохондрии говорит об увели ющей функции.

## Влияние продол

Группы коров (голов) | те

Контрольная (20 голов)  
Опытная (20 голов)

Интенсивнее (см. рисунок, Б) добавке АДФ. Не хондриях ткани п фоне окисления г рисунок, Б, а) у исходит при окис тонкого кишечника глутамата в среду сукцината (табл. риях ткани слизис лят контрольной единицы. В митох отсутствовал, так Это может свиде ние премикса коро биллизацию митох низкоэнергетическо увеличивается оки ция. Следовательно ствует выявлению не только у лабор вой [2], но и в м имеет определенное жет указывать на рожденных телят и жвачных в раннем дится в стадии стар

Наблюдения за коров-матерей пока вает влияние на ре коров в послеотелы ровам премикса пр полученные от кор на 5 кг больше, чем пы меньше заболе возникало, то оно микс, характеризов в послеотельный пер ных можно утвержд

это обнаруживалось в митохондриях слизистой оболочки кишечника и надпочечника телят. Как видно из рисунка *Б*, 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 скормливания 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 сукцината, 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 сукцината (табл. 1). Это в первую очередь наблюдается в митохондриях ткани слизистой оболочки кишечника, печени и мышцы сердца телят контрольной группы, где коэффициент  $ДК_{г.л.у.}/ДК_{сук.}$  был выше единицы. В митохондриях тканей телят опытной группы этот эффект отсутствовал, так как коэффициент  $ДК_{г.л.у.}/ДК_{сук.}$  был ниже единицы. Это может свидетельствовать о том, что продолжительное скормливание 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 сукцината 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, скормливание 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 заболели 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-

1,41—1,43.  
ет возмож-  
ных телят

2,82  
2,83

2,37  
2,25

1,83

1,79  
2,00

продол-

1 — среда  
2, цифра —  
кислорода

атковремен-  
табилизации

осфорилиро-  
ни поликом-  
ую очередь

