

Влияние ингибитора и ионов электролитов на активность АТФаз молока коров чёрно-пёстрой породы

Е.Ю. Фёдорова, к.б.н., Курская ГСХА;

В.И. Максимов, д.б.н., профессор, Московская ГАВМиБ

Ионный состав внутриклеточной и внеклеточной среды имеет существенные различия в концентрации катионов натрия и калия. Создание градиента концентраций ионов натрия и калия по обе стороны мембраны осуществляется активным транспортом этих ионов против их электрохимических градиентов специальным ферментом — Na/K-АТФазой, использующей энергию макроэргических связей АТФ. Например, в кардиомиоцитах примерно 10–15% всей энергии расходуется на работу мембранных транспортных белков. Наибольшая активность Na/K-АТФазы обнаруживается в возбудимых и секреторных тканях организма животного [1, 2]. На активность Na/K-АТФазы существенное влияние оказывают многие факторы: соотношение ионов натрия и калия, количество доступного АТФ, возраст животных, условия содержания и кормления. Специфическими ингибиторами Na/K-АТФазы служат убаин (строфантин-Г) и другие сердечные гликозиды, а также эндогенные дигиталисоподобные факторы [3].

Цель исследования — изучение влияния строфантина-Г, ионов натрия и калия на активность АТФазы молока коров чёрно-пёстрой породы в различные сезоны года.

Материалы и методы. Исследования проводили на крупном рогатом скоте чёрно-пёстрой породы ($n=30$). Условия содержания и кормления животных соответствовали действующим нормативам. Пробы молока у коров отбирали пропорционально суточному удою, выделение оболочек жировых шариков из молока проводили по методике, описанной в работе В.Н. Кириленко [4].

АТФазную активность оболочек жировых шариков молока определяли методом К.С. Keeton [6],

при этом активность Na^+ , K^+ -АТФазы рассчитывали по разности между общей АТФазой и убаиннечувствительной АТФазой. При определении общей АТФазной активности смешивали 0,05 мл суспензии эритроцитов или гомогената тканей с 1,4 мл стандартной среды (150 мМ NaCl; 5,0 мМ KCl; 25 мМ трис-НCl; pH — 8,0). Затем к полученной суспензии добавляли 0,2 мл субстратной среды (3 мМ Na_2ATP , 3 мМ MgCl_2) и пробы инкубировали в течение 45 мин. при температуре 37°C. Реакцию прекращали путём добавления 1,8 мл 6-процентного раствора трихлоруксусной кислоты. Пробы центрифугировали при 0°C и в надосадочной жидкости определяли содержание неорганического фосфора. При определении Mg^{2+} -АТФазы, т.е. убаиннечувствительной АТФазы в субстратную среду вводили 10^{-4} М убаина (строфантина Г), который подавлял активность Na^+ , K^+ -АТФазы [6].

Полученные данные подвергались биометрической обработке [5].

Результаты исследований. В результате проведённых исследований было установлено, что минимальная активность Mg^{2+} , Na^+ , K^+ -, Mg^{2+} - и Na^+ , K^+ -АТФаз молочных шариков коров чёрно-пёстрой породы регистрировалась весной, а максимальная в зимние месяцы (рис. 1).

С целью выявления степени влияния строфантина-Г на активность АТФазы молочных шариков коров чёрно-пёстрой породы в различные сезоны года был проведён двухфакторный дисперсионный анализ. Независимым фактором при этом служили сезоны (фактор А) и строфантин-Г (фактор Б). За нулевую точку отсчёта принимали активность Mg^{2+} , Na^+ , K^+ -АТФазы.

Дисперсионный анализ показал, что активность АТФазы была детерминирована на 1,32% временами года и на 92,17% строфантин-Г

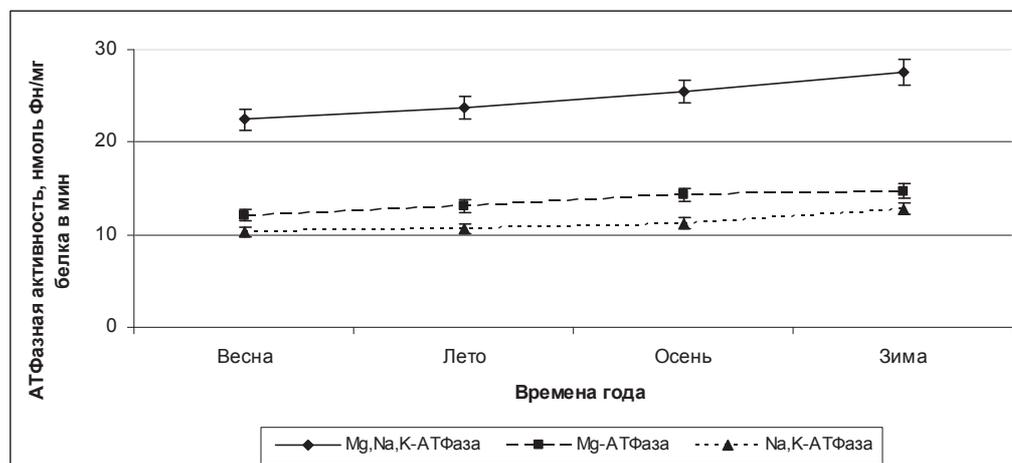


Рис. 1 – Сезонная динамика активности АТФаз молочных шариков коров чёрно-пёстрой породы

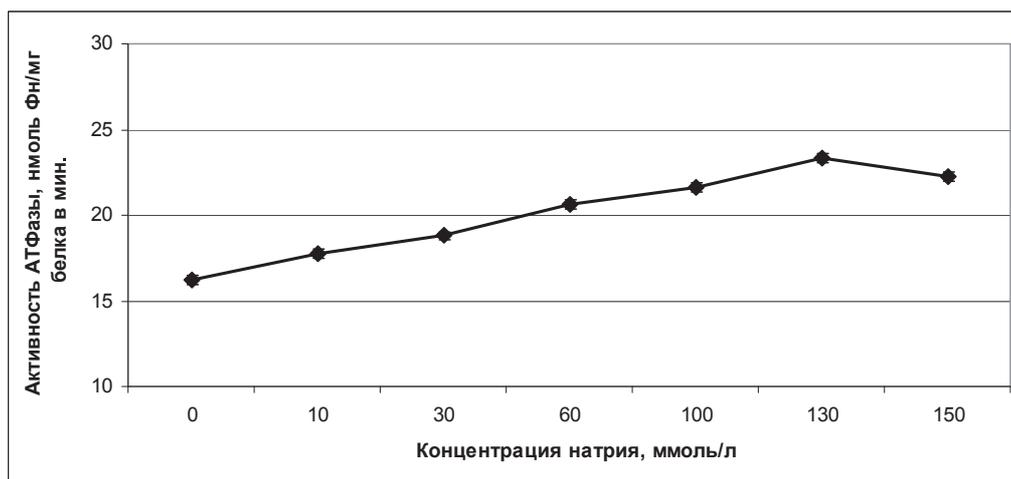


Рис. 2 – Влияние ионов калия на активность АТФазы молока коров чёрно-пёстрой породы

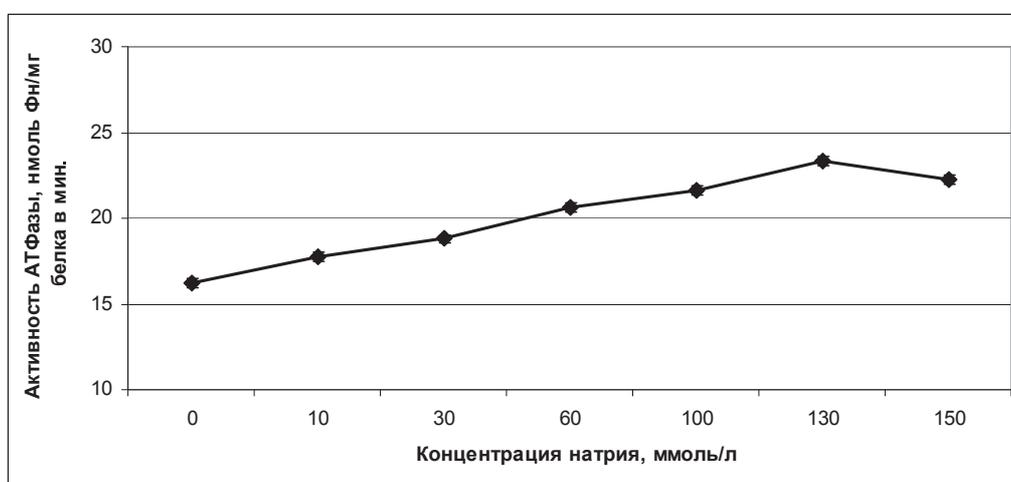


Рис. 3 – Влияние ионов натрия на активность АТФазы молока коров чёрно-пёстрой породы

($P < 0,05$). Совместное влияние факторов было незначительным (0,64%).

Результаты исследований по изучению влияния различных концентраций ионов Na^+ и K^+ на активность АТФазы (рис. 2, 3) свидетельствуют, что наибольшее влияние на активность фермента оказывали ионы натрия, ионы калия оказывали менее выраженное действие. Максимальная активность фермента регистрировалась при концентрации калия 15–20 ммоль·л⁻¹ и концентрации натрия 100–130 ммоль·л⁻¹.

Выводы. Установлено, что активность АТФаз молока коров чёрно-пёстрой породы достоверно зависела от времени года, что, вероятно, связано с различным уровнем водно-солевого обмена в эти периоды. Выявлена достоверная детерминация активности АТФазы молочных шариков строфантинном-G, что даёт возможность предположить их родство с аналогичными ферментами клеток тканей и органов.

На активность АТФаз молочных шариков существенное влияние оказывали ионы Na^+ и K^+ , при этом основную регуляторную роль в активности фермента играли ионы натрия, ионы калия оказывали меньшее влияние на активность этого фермента, что, вероятно, связано с особенностями функционирования Na^+ , K^+ -чувствительного центра этого фермента.

Литература

1. Болдырев А.А. Na/K-АТФаза – свойства и биологическая роль // Соросовский образовательный журнал. 1998. № 4. С. 2–9.
2. Болдырев А.А. Na/K-АТФаза как олигомерный ансамбль // Биохимия. 2001. Т. 66. Вып. 8. С. 1013–1025.
3. Федорова Е.Ю., Максимов В.И. Породные особенности функционирования АТФазных ферментных систем эритроцитов и молока коров // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. 2012. № 4. С. 77–78.
4. Кириленко В.Н. Липиды мембран жировых глобул молозива и молока коров и их использование для получения липосом: дисс. ... канд. биол. наук. Киев, 1989. 156 с.
5. Плохинский Н.А. Алгоритмы биометрии. М.: МГУ, 1980. 150 с.
6. Keeton K.S., Kaneko I.I. Characterization of adenosinetriphosphatase in erythrocyte membrane of the cow // Proc.Soc.Ekp. Biol. and Med. 1972. N 1. P. 140–145.