

Архив журнала

## Вопросы медицинской химии

*ISSN 0042-8809*

1985

**Внимание!** Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

## Voprosy meditsinskoi khimii

*ISSN 0042-8809*

1985

**Attention!** OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ XXXI

ВЫПУСК 5

СЕНТЯБРЬ — ОКТЯБРЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ  
МЕДИЦИНСКОЙ  
ХИМИИ



МОСКВА. МЕДИЦИНА. 1985



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. И. МАЗУРОВ (зам. главного редактора), Т. Т. БЕРЕЗОВ, Е. Н. ГЕРАСИ-  
МОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН,  
Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ,  
Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ (ответственный секретарь), В. А. САКС,  
С. Е. СЕВЕРИН, В. Б. СПИРИЧЕВ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)  
БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)  
БЫЧКОВ С. М. (Москва)  
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)  
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)  
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)  
ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)  
ТАРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)  
ТЯХЕПЫЛЬД Л. Я. (Тарту)  
УТЕВСКИЙ А. М. (Харьков)  
ШАПОТ В. С. (Москва)  
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)  
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)

Адрес редакции журнала:

Москва, Солянка, 14

АМН СССР

Тел. 297-16-44

Зав. редакцией Л. А. Фирсова

1983

ность, но и надежность биохимического исследования при типировании печеночной патологии, так как на основании расчета энзимных коэффициентов были выявлены качественные, достаточно специфические особенности энзимогаммы.

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Вилкинсон Дж. Принципы и методы диагностической энзимологии. М., 1981.
2. Клиническая ферментология./Под ред. Э. Щеклика. Варшава, 1966.
3. Haschen R. — Mitt. Dtsch. Ges. Klin. Chem. 1982, Bd. 13, № 1.
4. Lippi U., Cappalletti P. et al. — Clin. chim. Acta, 1983, vol. 130, p. 283—289.
5. Nahji A. A., Reddy S. — J. clin. Chem., 1983, vol. 36, p. 716—718.
6. Schmidt E., Schmidt F. W. Kleine Enzym-Fibel. Praktische Enzym-Diagnostik. Mannheim, 1973, S. 21—41.

Поступила 04.06.84

УДК 616.127-005.4-07:616.127-008.931-092.9

А.-А. Й. Тамулявичюс, Л. Л. Иванов, Л. Ю. Лукоявичюс, А. К. Прашкявичюс

### АМИНОЦИЛ-ТРНК-СИНТЕТАЗЫ И ИХ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ПРИ АУТОЛИЗЕ СЕРДЦА СВИНЬИ

Кафедра биологической и органической химии Каунасского медицинского института

Ишемия миокарда приводит к расстройству клеточного метаболизма, в том числе биосинтеза белка [6, 15, 20]. Ранее было установлено, что изменение белкового синтеза в ишемическом миокарде связано с уменьшением акцепторной активности тРНК, специфичных к ряду аминокислот [4]. Цель данной работы — установить связь между метаболическими нарушениями в ишемическом миокарде и функциональной активностью аминокцил-тРНК-синтетаз (АРСаз, КФ 6.1.1), которые играют важную роль на начальных этапах белкового синтеза, катализируя реакцию аминокцилирования тРНК [17].

Ключевая роль АРСаз в процессе трансляции позволяет предположить, что активность этих ферментов подвержена регуляции внутриклеточными факторами. В ряде работ [12, 16] показано, что неорганическая пирофосфатаза

#### ENZYMODIAGNOSIS OF MECHANICAL JAUNDICE

A. D. Tamarkina, E. S. Dementyeva, N. I. Krylova

Section of Clinical Biochemistry, Branch for Development of Drugs, Institute for Biological Testing of Chemical Compounds, Moscow

Combined enzymodiagnostic program — estimation of total activity of blood serum enzymes aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (AAT), alkaline phosphatase (AP),  $\gamma$ -glutamyl transferase ( $\gamma$ -GT), glutamate dehydrogenase (GDH), acetyl cholinesterase (ACE), butyryl cholinesterase (BCE) — was studied to evaluate its diagnostic validity in surgical clinic. In mechanical jaundice of various origin mean values of the enzymatic activities studied as well as the enzymatic coefficients were distinctly altered as compared with control values: AST/AAT,  $\gamma$ -GT/AST as well as the newer coefficients  $\frac{ACE+BCE}{AST+AAT}$ . The jaundices of tumoral and non-tumoral genesis caused markedly dissimilar alterations in the coefficients AST/AAT and  $\frac{ACE+BCE}{AST+AAT}$ .

The data of enzymological analysis may be used for differential diagnosis in jaundices.

(КФ 3.6.1.1) активизирует АРСазы, расцепляя ингибитор этих ферментов — неорганический пирофосфат как эндогенный, так и образовавшийся в результате реакции аминокцилирования тРНК. В связи с этим целью данной работы явилось также изучение активности неорганической пирофосфатазы как в экстрактах ткани, так и в составе высокомолекулярных комплексов АРСаз, выделенных из ишемического миокарда.

#### М е т о д и к а

В качестве модели тотальной ишемии миокарда использовали аутолиз изолированного сердца свиньи. Выбор этой экспериментальной модели обусловлен тем, что аутолизированная ткань имеет сходные структурные и метаболические характеристики с ишемической тканью [14].

Перед воспроизведением ишемии миокард освобождали от жировой и соединительной ткани и делили на 3 части, из которых одна

служила контролем, две другие подвергали аутолизу в течение 15 и 30 мин при 37 °С как описано ранее [7]. Результаты контрольных экспериментов не показали существенного различия активности АРСаз и неорганической пирофосфатазы в различных участках миокарда.

Суммарные препараты АРСаз из миокарда свиньи выделяли хроматографией по строисомальной надосадочной жидкости на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой [5]. Высокомолекулярные комплексы АРСаз из миокарда свиньи получали, как описано в работе [3].

Активность АРСаз определяли по начальной скорости реакции аминоацилирования тРНК при насыщающих концентрациях субстратов реакции в условиях соблюдения прямой зависимости выхода продукта от концентрации белка и времени инкубации. Инкубационная смесь в объеме 0,25 мл содержала: 100 мМ трис-НСl pH 7,5, 10 мМ KCl, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 4—12 мМ АТР, 0,8—1,2 мМ радиоактивной аминокислоты, 200 мкг тРНК, 80 мкг белка суммарного препарата АРСаз либо 60 мкг белка комплексов. Время инкубации составляло 3 мин для экстрактов миокарда и 4 мин для комплексов АРСаз. Реакцию прекращали добавлением равного объема 10% раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ), осадки промывали на миллипоровых фильтрах «Synpro № 3». Радиоактивность проб измеряли на сцинтилляционном счетчике DELTA-300 с эффективностью счета 60%.

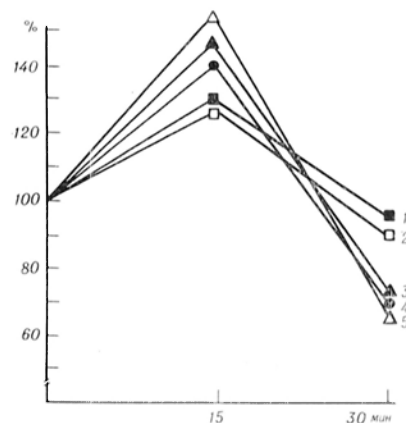
Активность неорганической пирофосфатазы находили по приросту неорганического фосфора (Р<sub>и</sub>) в пробах после инкубации в течение 20 мин при 30 °С. Реакционная смесь в объеме 1,5 мл содержала: 50 мМ трис-НСl pH 8,0, 0,8 мМ Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 8 мМ MgCl<sub>2</sub>, 100 мкг белка суммарного препарата АРСаз или 200 мкг белка комплексов АРСаз. Реакцию останавливали прибавлением в пробы 0,2 мл 40% раствора ТХУ. Р<sub>и</sub> измеряли по методу Фиске — Суббароу [13].

Для статистической обработки результатов применяли *t*-критерия Стьюдента [1].

## Результаты и обсуждение

Результаты изучения функциональной активности АРСаз экстрактов миокарда при аутолизе сердца свиньи представлены на рисунке. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о существенном увеличении аланил-, глицил-, глутамил-, лейцил- и серил-тРНК-синтетазных активностей суммарных препаратов АРСаз при 15-минутном аутолизе по сравнению с контролем. При аутолизе сердца в течение 30 мин наблюдались уменьшение глицил-, глутамил- и лейцил-тРНК-синтетазных активностей экстрактов миокарда; аланил- и серил-тРНК-синтетазные активности в указанный срок аутолиза снижались лишь до контрольного уровня.

В работах ряда авторов показано, что АРСазы в клетках высших организмов функционируют в составе высоко-



Аминоацил-тРНК-синтетазная активность экстрактов миокарда при аутолизе сердца свиньи. По оси абсцисс — время аутолиза (в мин), по оси ординат АРСазная активность (в %). 1—5 — аланил-, серил-, глутамин-, глицил- и лейцил-тРНК-синтетазы соответственно.

молекулярных комплексов [11, 17]. Ранее было установлено изменение ряда АРСазных активностей в составе высокомолекулярных комплексов, выделенных из печени кроликов при экспериментальном инфаркте миокарда [3]. Поэтому была определена АРСазная активность не только экстрактов миокарда, но и ферментов той же аминокислотной специфичности в составе комплексов. Результаты, приведенные в табл. 1, свидетельствуют о значительном увеличении аланил-, глутамил-, лейцил-, серил-тРНК-синтетазной и уменьшении глицил-тРНК-синтетазной активности комплексов, выделенных из аутолизированного в течение 15 мин миокарда, по сравнению с контролем. При аутолизе в течение 30 мин наблюдали уменьшение аланил- и глицил-тРНК-синтетазных активностей. Активности глутамил-, лейцил- и серил-тРНК-синтетазы в этот срок аутолиза практически не изменялись по сравнению с таковой соответствующих АРСаз контрольных препаратов.

Таким образом, в ишемическом миокарде наблюдалось несоответствие между изменением функциональной активности тРНК [4] и соответствующих АРСаз. Обнаруженное увеличение активности АРСаз как в экстрактах миокарда, так и в составе высокомолекулярных комплексов при аутолизе в течение 15 мин зависит от увеличения либо молекулярной активности этих ферментов, либо их количественного содержания в ткани. Так, в ряде работ ука-

Таблица 1

Аминоацил-тРНК-синтетазная активность (в пмолях аминоацил-тРНК на 100 мкг белка в 1 мин) высокомолекулярных комплексов АРСаз миокарда при аутолизе изолированного сердца свиньи ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

[ $^{14}$ C] аминокислота	Контроль	Время аутолиза, мин	
		15	30
Аланин	$5,79 \pm 0,26$	$11,44 \pm 0,53$	$4,02 \pm 0,51$
Глицин	$11,30 \pm 1,11$	$6,29 \pm 0,75$	$5,29 \pm 0,66$
Глутаминовая кислота	$22,40 \pm 1,34$	$27,90 \pm 1,94$	$19,08 \pm 2,10^*$
Лейцин	$40,36 \pm 1,69$	$63,72 \pm 5,35$	$44,13 \pm 2,42^*$
Серин	$6,59 \pm 0,96$	$11,49 \pm 0,97$	$7,31 \pm 1,33^*$

\* Изменения статистически недостоверны.

зывается на возможность регуляции каталитической активности АРСаз некоторыми цитоплазматическими факторами [9, 12], а также путем их фосфорилирования [8, 10]. Имеются данные, указывающие на способность неорганической пирофосфатазы активировать АРСазы путем расщепления ингибитора этих ферментов — неорганического пирофосфата [12, 16]. Поэтому можно было предположить, что этот фермент, присутствуя как в экстрактах ткани, так и в составе комплексов АРСаз, может обусловить обнаруженное увеличение ряда АРСазных активностей при аутолизе сердца.

Результаты, представленные в табл. 2, свидетельствуют о значительном увеличении активности неорганической пирофосфатазы как в экстрактах ткани, так и в составе высокомолекулярных комплексов АРСаз после 15 и 30 мин аутолиза миокарда. Наблюдаемое повышение активности неорганической пирофосфатазы, по-видимому, является одной из причин увеличения активности ряда АРСаз при аутолизе сердечной мышцы.

При 30 мин аутолиза сердца наблюдали несоответствие между изменением активности АРСаз (см. рисунок и табл. 1) и активностью неорганической пирофосфатазы (см. табл. 2). Уменьшение изу-

ченных АРСазных активностей может быть обусловлено уменьшением количества активных форм АРСаз за счет выхода из лизосом ферментов, обладающих протеолитической активностью [18, 19]. На активность АРСаз может также влиять существенное уменьшение значений pH внутри клетки, наблюдаемое при 30 минутном аутолизе сердца [7]. Поскольку неорганическая пирофосфатаза обладает довольно высокой стабильностью в области низких значений pH [2], развивающийся при ишемии внутриклеточный ацидоз, возможно, в меньшей степени влияет на активность этого фермента, чем на таковую АРСаз.

Уменьшение глицил-тРНК-синтетазной активности в составе комплексов АРСаз при 15 мин аутолиза сердца может быть вызвано нарушением самого процесса образования комплексов либо их частичным распадом. Возможно, что этот фермент в меньшей степени, чем другие АРСазы, способен участвовать в комплексообразовании [3].

Для окончательного установления причин изменения активностей АРСаз при аутолизе сердца были исследованы выделения высокоочищенных препаратов индивидуальных ферментов, их молекулярная активность и каталитические свойства.

Таблица 2

Активность неорганической пирофосфатазы (в пмолях  $P_i$  на 1 мг белка в 1 мин) в экстрактах миокарда и в составе высокомолекулярных комплексов АРСаз при аутолизе сердца свиньи ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Препарат	Контроль	Время аутолиза, мин	
		15	30
Экстракт миокарда	$324,53 \pm 11,95$	$395,47 \pm 7,19$	$396,58 \pm 13,44$
Высокомолекулярные комплексы АРСаз	$2,33 \pm 0,21$	$6,83 \pm 0,67$	$6,33 \pm 0,61$

1. Ашмарин Н. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л., 1962.
2. Ефремович Н. В., Волк Е. С., Байков А. А., Шахов Ю. А. — Биохимия, 1980, т. 45, № 6, с. 1033—1040.
3. Иванов Л. Л., Лукосявичюс Л. Ю., Коваленко М. И. и др. — Укр. биохим. журн., 1983, т. 55, № 4, с. 368—371.
4. Прашкявичюс А. К., Тамулявичюс А.-А., Лукосявичюс Л. Ю., Коваленко М. И. — В кн.: Теоретические и практические аспекты познания биохимических процессов. Вильнюс, 1983, с. 70.
5. Тамулявичюс А.-А., Коваленко М. И., Лукосявичюс Л., Прашкявичюс А. — В кн.: Механизмы стабильности и регуляции клеток и тканей организма. Каунас, 1982, с. 169—170.
6. Шабров А. В. — Врач. дело, 1972, № 10, с. 20—21.
7. Armiger L. C., Seelye R. N., Carnell V. M. et al. — Lab. Invest., 1976, vol. 34, p. 357—362.
8. Berg B. H. — Biochim. biophys. Acta, 1977, vol. 479, p. 152—171.
9. Chua B., Elson C., Sharago E. — Ibid., vol. 478, p. 747—785.
10. Damuni Z., Caudwell F. B., Cohen P. — Europ. J. Biochem., 1982, vol. 129, p. 57—65.
11. Dang C. V., Johnson D. L., Yong D. C. H. — FEBS Letters, 1982, vol. 142, p. 1—6.
12. Dignam J. D., Deutscher M. P. — Biochemistry (Wash.), 1979, vol. 18, p. 3165—3170.
13. Fiske G. H., Subbarow Y. — J. biol. Chem., 1925, vol. 66, p. 375—400.
14. Herdson P. B., Kallenbach J. P., Jennings R. B. — Amer. J. Path., 1969, vol. 57, p. 539—557.
15. Kao R., Rannels D. E., Morgan H. E. — Acta med. scand., 1976, vol. 199, p. 117—123.
16. Klekamp M., Puhuski E., Hampel A. — Biochemistry (Wash.), 1982, vol. 2, p. 3513—3517.
17. Schimmel P. R., Söll D. — Ann. Rev. Biochem., 1979, vol. 48, p. 601—648.
18. Schwartz W. N., Bird J. W. C. — Biochem. J. 1977, vol. 167, p. 810—820.
19. Wildenthal K. — J. molec. cell. Cardiol., 1978, vol. 10, p. 595—603.
20. Wollenberger A., Onnen K., Hinterberger U. et al. — Cardiology, 1971/1972, vol. 56, p. 48—64.

Поступила 11.06.84

# AMINOACYL-TRNA SYNTHETASES AND THEIR HIGH MOLECULAR COMPLEXES IN AUTOLYSIS OF PIG HEART MUSCLE

A. J. Tamulevicius, L. L. Ivanov, L. J. Lukosevicius, A. K. Praskevicius

Chair of Biochemistry, Medical School, Kaunas

In pig myocardial extracts autolyzed within 15 min alaninyl-, glycyl-, glutamyl-, leucyl- and seryl-tRNA synthetase activities were increased as compared with controls. The enzymatic activities were decreased after autolysis for 30 min. The 15 min autolysis was shown to decrease the molecular mass of the glycyl-tRNA synthetase complex. Within both 15 min and 30 min autolysis inorganic pyrophosphatase was markedly activated either in myocardium extracts or in high molecular complexes; this phenomenon may be responsible for activation of a number of aminoacyl-tRNA synthetases.

УДК 612.352.3:612.6.051.014.46:615.256.51

Э. С. Геворкян, А. Ш. Абрамян, К. С. Матинян, Г. А. Паносян

## ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ЛАБИЛЬНО СВЯЗАННЫХ НЕГИСТОНОВЫХ БЕЛКОВ ХРОМАТИНА ПЕЧЕНИ ПЕТУШКОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭСТРАДИОЛА

Кафедра биофизики Ереванского университета

Эстрадиоловая индукция вителлогена — предшественника специфического белка яичного желтка фосвитина — в клетках печени петушков является типичной моделью дерепрессии генов, и ее изучение может иметь важное значение для выяснения механизмов внутриклеточной регуляции и исследования молекулярных механизмов действия эстрогенов. Механизм действия эстрогенов на генетический аппарат клеток эукариотов в настоящее время интенсивно изучают [8, 13, 15]. При этом особое внимание уделяют вопросу о взаимодействии гормон-рецепторных комплексов

с акценторными участками хроматина, в структуре которых немаловажная роль принадлежит негистоновым белкам, обеспечивающим высокую специфичность взаимодействия. Однако исследование негистоновых белков хроматина затруднительно ввиду их высокой гетерогенности. В последнее время внимание многих исследователей привлекает определенная группа негистоновых белков. Так называемые лабильно связанные негистоновые белки (ЛНСБ) в отличие от прочно связанных и остаточных негистоновых белков экстрагируются из хроматина 0,1—0,4 М хлористым натри-