

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

электронов в процессе гидроксилирования. О возможности ингибирования при ожоговой травме терминального компонента микросомальной системы окисления свидетельствует факт отсутствия изменений в активности НАДФ·Н- и НАД·Н-оксидоредуктаз во все изучаемые сроки (табл. 3), что является признаком интактности начальных участков переноса электронов от НАДФ·Н и НАД·Н к соответствующим акцепторам.

Подобные реакции были обнаружены и при некоторых других формах патологии, в частности при ишемии печени [11], когда наряду со значительной инактивацией НАДФ·Н-зависимого перекисного окисления наблюдалось ингибирование цитохромоксидазной и цитохром Р-450-оксигеназной систем.

Полученные данные свидетельствуют о том, что термическая травма приводит к определенному нарушению функционирования микросомальной системы окисления, особенно выраженному на 3-и и 7-е сутки после ожога, и затрагивает в основном среднюю или терминальную часть электронтранспортной цепи микросом. Степень этих нарушений находится в тесной зависимости от общего функционального состояния клетки, ее энергетической обеспеченности и может, по всей вероятности, существенно углубляться при воздействии биологически активных продуктов гистогенного происхождения [7, 9, 10], обладающих широким спектром действия и способных определять направленность многих биохимических процессов в организме обожженных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аристархова С. А., Бурлакова Е. Б., Заец Т. Л. — *Вопр. мед. химии*, 1983, № 4, с. 102—105.

2. Арчаков А. И. Микросомальное окисление. М., 1975.
3. Карузина И. И., Арчаков А. И. — В кн.: *Современные методы в биохимии*. М., 1977, с. 57—60.
4. Лакин Г. Ф. Биометрия. М., 1973.
5. Лифшиц Р. И. — В кн.: *Метаболические основы острой ожоговой токсемии*. Омск, 1977, с. 190.
6. Лукьянова Л. Д., Балмуханов Б. С., Уголев А. Т. Кислородзависимые процессы в клетке и ее функциональное состояние. М., 1982.
7. Рябинин В. Е. Изучение функционального состояния митохондрий в период ранней ожоговой токсемии и при воздействии токсических пептидов крови. Автореф. дис. канд. Челябинск, 1979.
8. Рябинин В. Е., Лифшиц Р. И., Чарная Л. Ф. и др. — В кн.: *Митохондрии. Механизмы сопряжения и регуляции*. Пушкино, 1981, с. 74.
9. Федоров Н. А., Мовшев Б. Е., Недошвина Р. В. и др. — *Вопр. мед. химии*, 1974, № 4, с. 371—375.
10. Chaet A. B. — In: *International Congress on Research in Burns. 1-st. Abstracts*. Washington, 1960, p. 39.
11. Ferrero M. E., Orsi R., Bernelli-Zazzeri A. — *Exp. molec. Path.*, 1978, vol. 28, p. 256.
12. Kamath S. A., Narayan K. A. — *Analyt. Biochem.*, 1972, vol. 48, p. 53—61.

Поступила 22.03.84

EFFECT OF THERMAL INJURY ON THE NADPH-, NADH-DEPENDENT ELECTRON TRANSFER SYSTEM OF MICE LIVER MICROSOMES

V. E. Ryabinin, R. I. Lifshits

Medical School, Chelyabinsk

Induction of NADPH- and ascorbate-dependent lipid peroxidation has been shown to cause a decrease in the rate of oxygen utilization by liver microsomes of burned mice as compared with controls. The thermal injury did not change the activity of NADPH- and NADH-oxydoreductases, thus indicating that initial elements of electron transfer system were still maintained at the normal state.

УДК 616.127-005.4-07:616.12-018.1:576.311.347]-008.939.15

А. И. Толейкис, В. Ю. Жилинскене, В. И. Борутайте, А. И. Дагис,
А. Ю. Трумпичкас, А. К. Прашкявичюс

ВЛИЯНИЕ ИШЕМИИ И РОТЕНОНА НА СОДЕРЖАНИЕ ЛИПИДОВ, АДЕНИННУКЛЕОТИДОВ И ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ СЕРДЦА

Лаборатория метаболизма НИИ физиологии и патологии сердечно-сосудистой системы при Каунасском медицинском институте, кафедра биологической и биоорганической химии Каунасского медицинского института

При ишемии в миокарде и в митохондриях (МХ) накапливаются длинноцепочечные ацил-КоА [9, 10, 12, 14,

16], подавляется дыхание МХ и активность адениннуклеотидтранслоказы (АНТ). In vitro длинноцепочечные ацил-

КоА являются сильными конкурентными по отношению к АТФ ингибиторами АНТ [15]. Была выдвинута гипотеза, что ключевым звеном в нарушении энергетического метаболизма ишемической миокардиальной клетки служит подавление АНТ ацил-КоА [16]. Известно, что значительная часть ацил-КоА, накапливающегося в основном в матриксе, окисляется при выделении МХ обычными методами [10, 13], и, следовательно, теряется возможность исследовать влияние внутримитохондриального ацил-КоА на функции МХ. Окисление ацил-КоА предупреждают ингибиторы дыхания, в качестве которых был использован KCN [9, 10, 13, 14] и ротенон (РО) [10]. Сравнение кинетических свойств ферментов МХ, выделенных из ишемического миокарда с РО (МХ+РО) и без него (МХ—РО), может служить подтверждением упомянутой выше гипотезы [2, 6]. Однако неизвестно, каково влияние самого РО на структурные и функциональные параметры МХ. Мы исследовали, как изменяется состав фосфолипидов, ацил-КоА, незатерифицированных жирных кислот (НЭЖК), адениннуклеотидов (АН), а также дыхание и мембранный потенциал МХ сердца при их выделении с РО в норме и при ишемии.

Методика

Влияние РО исследовали на контрольных и поврежденных ишемией МХ сердца кроликов с массой тела 2—4 кг. Изолированное сердце промывали в 0,9% KCl — в контроле использовали ледяной раствор, при ишемии — теплый (37 °C). Ишемию миокарда воспроизводили путем аутолиза продолжительностью 0,5 ч при 37 °C [15]. Сердце разделяли на 2 части, одну из них использовали для выделения МХ обычным методом дифференциального центрифугирования, т. е. без ингибиторов тканевого дыхания [17], другую — для выделения МХ с РО. Среда выделения содержала 180 мМ KCl, 2 мМ ЭДТА, 4 мМ трис-HCl, pH 7,0 (при 37 °C). Спиртовой раствор РО добавляли в среду перед гомогенизацией (0,1 мг РО на 1 г ткани, конечная концентрация этанола в среде 0,5 %). Дыхание МХ регистрировали полярографически с использованием закрытого кислородного электрода E5047/0 (фирма «Radiometer», Дания) при 37 °C в среде, содержащей 150 мМ KCl, 5 мМ KH_2PO_4 , 10 мМ трис-HCl, 1,25 мМ MgCl_2 , pH 7,2. Концентрации субстратов окисления и других реагентов: сукцинат — 20 мМ, 3-оксисутират — 10 мМ, АДФ при окислении сукцината — 200 мкМ, при окислении 3-оксисутирата — 400 мкМ, РО при окислении сукцината — 2 мкМ. Мембранный потенциал измеряли спектрофотометрически (37 °C) в среде, содержащей 150 мМ KCl, 10 мМ трис-HCl, 5 мМ KH_2PO_4 , 10 мМ сукцината, 2 мкМ

РО, 10 мкМ сафранина, pH 7,2, при длинах волн 522—484 нм [4] на двухлучевом спектрофотометре модели 557 фирмы «Хитачи». Липиды фракционировали методом ТСХ на силикагеле G в системе гексан — диэтиловый эфир — уксусная кислота, 80 : 20 : 1. Фракцию НЭЖК переводили в метиловые эфиры кипячением с HCl-метанолом в течение 2 ч. Концентрацию метиловых эфиров определяли методом ГЖХ на газовом хроматографе «Хром-41» (ЧССР) с применением в качестве внутреннего стандарта маргариновой кислоты, которую добавляли к МХ перед экстракцией липидов. Колонка стеклянная, внутренний диаметр 3 мм, заполненная 4% DEGS на Хромосорбе G-AW-DMCS, 80—100 меш. Температура колонки 178 °C. Газ-носитель — азот (40 мл/мин), водород (32 мл/мин), воздух (0,4 л/мин). Фосфолипиды определяли, как описано ранее [3], содержание перастерифицированных в кислоте длинноцепочечных ацил-КоА — спектрофотометрически [18] сразу же после выделения МХ. АН экстрагировали по [3]. Экстракт нейтрализовали 5 М K_2CO_3 . Концентрацию АН определяли с применением ферментативных методов по [18] с тем исключением, что для измерения содержания АДФ и АМФ использовали буфер следующего состава: 50 мМ триэтанолламин-HCl, 5 мМ MgCl_2 , pH 7,0. Митохондриальный белок определяли биуретовым методом [1]. Для статистической обработки данных применяли метод парных сравнений (влияние РО) и метод Стьюдента (влияние ишемии).

Результаты и их обсуждение

Основной целью выделения МХ с РО было сохранение содержания длинноцепочечных ацил-КоА. Как видно из табл. 1, РО предупреждал окисление этих соединений. Содержание ацил-КоА при выделении МХ с РО повысилось на 5 % в контроле и на 62% при ишемии. Однако мы не получили статистически достоверного повышения содержания ацил-КоА под влиянием ишемии, хотя в среднем оно было на 21 и 30% выше контрольного в МХ — РО и в МХ+РО соответственно.

На тех же препаратах МХ исследовали состав НЭЖК и фосфолипидов. Контрольные МХ+РО по сравнению с МХ — РО содержали значительно больше линолеата (на 49%); повышение содержания олеата наблюдали в 5, арахидоната — в 4 случаях из 6, однако изменения средних величин были статистически недостоверными. На концентрацию НЭЖК в МХ из ишемической ткани РО не влиял. При ишемии суммарная концентрация НЭЖК увеличилась на 40% в МХ+РО и на 63% в МХ — РО, а концентрация стеарата — на 97 и 98% соответственно. Концентрация арахидо-

Т а б л и ц а 1

Влияние ишемии и РО на концентрацию НЭЖК и ацил-КоА в МХ сердца кролика

Измеряемый параметр	Контроль (n = 6)		Ишемия 0,5 ч (n = 7)	
	— РО	+ РО	— РО	+ РО
Суммарная концентрация НЭЖК	669,5±62,1	754,1±78,2	1092,9±87,1 $p_2 < 0,01$	1053,1±89,1 $p_2 < 0,05$
14 : 0	30,9±5,9	30,2±8,4	31,1±5,4	31,6±1,8
16 : 0	198,3±22,0	191,5±19,1	273,6±16,1	246,7±17,3
16 : 1	22,6±2,7	22,0±3,8	20,7±1,8	23,1±2,6
18 : 0	140,0±11,5	151,0±14,5	276,6±30,5 $p_2 < 0,01$	296,9±23,2 $p_2 < 0,001$
18 : 1	145,8±13,9	185,8±20,6	197,2±18,3	198,3±18,3
18 : 2	63,0±9,4	94,2±13,5 $p_1 < 0,05$	93,0±18,8	99,1±18,2
20 : 4	68,9±6,8	83,8±11,4	166,9±36,6 $p_2 < 0,05$	157,3±31,8
Ацил-КоА	0,161±0,026	0,242±0,007 $p_1 < 0,05$	0,194±0,023*	0,315±0,040* $p_1 < 0,02$

* Число опытов 6.

П р и м е ч а н и е. Концентрации НЭЖК выражены в нанограммах на 1 мг белка, ацил-КоА — в наномолях на 1 мг белка; здесь и в табл. 2 и 3: p_1 — достоверность влияния РО, p_2 — достоверность влияния ишемии, n — число опытов.

ната статистически достоверно увеличилась (на 142%) только в МХ — РО, хотя тенденция к увеличению наблюдалась и в МХ+РО (см. табл. 1).

В контрольных МХ+РО по сравнению с МХ — РО было обнаружено повышение процентной концентрации лизофосфатидилхолина (ЛФХ) на 37% (табл. 2). На остальные фракции фосфолипидов РО не влиял ни в контрольных, ни в ишемических МХ. При ишемии процентная концентрация кардиолипина уменьшилась на 21% в МХ — РО и на 20% в МХ+РО, а статистически достоверное повышение концентрации ЛФХ (на 46%) наблюдалось только в МХ — РО. Повышение содержания ЛФХ в МХ+РО при ишемии маскирует его увеличение под действием РО.

Как видно из рисунка, РО вызывает большие изменения в составе адепиннуклеотидов МХ, хотя изменение общего содержания АН было статистически недостоверным. Подавление окисления эндогенных НАД-зависимых субстратов РО вызывает энергетический дефицит, что выражается в резком уменьшении содержания АТФ (на 73% и в контроле, и при ишемии), сопровождающемся увеличением содержания АДФ (на 115% в контроле и на 71% при ишемии) и АМФ (173 и 369% соответственно). Характер действия РО зависит от состояния МХ — при ишемии явно преобладает переход АТФ в АМФ, тогда как в контроле АТФ в равной мере превращался в АДФ и АМФ. Сочетанное воздействие РО и ишемии вызывало более выра-

Т а б л и ц а 2

Влияние ишемии и РО на фосфолипидный состав МХ сердца кролика

Измеряемый параметр	Контроль		Ишемия 0,5 ч	
	— РО	+ РО	— РО	+ РО
Лизофосфатидилхолин	3,5±0,2	4,8±0,3 $p_1 < 0,02$	5,1±0,4 $p_2 < 0,02$	5,4±0,4
Сфингомиелин	5,9±0,4	5,1±0,5	4,6±0,2	5,0±0,6
Фосфатидилхолин	37,4±0,8	36,5±1,0	39,9±0,8	39,4±1,0
Фосфатидилэтаноламин	30,0±0,9	30,9±1,1	33,1±0,5	32,5±0,8
Кардиолипид	19,8±0,8	19,6±0,5	15,6±0,5 $p_2 < 0,01$	15,7±0,8 $p_2 < 0,01$
Общий Р фосфолипидов, мкг Р на 1 мг белка	11,1±0,4	10,8±0,3	10,0±0,3	10,8±0,5

П р и м е ч а н и е. Состав фосфолипидов представлен в процентах липидного Р; число опытов 7.

Влияние ишемии и РО на функциональную активность МХ сердца кролика

Измеряемый параметр	Контроль		Ишемия 0,5 ч	
	— РО	+ РО	— РО	+ РО
Сукцинат				
Мембранный потенциал	0,143±0,004	0,148±0,002	0,122±0,009	0,127±0,008 $p_1 < 0,05$
V_2	84±6	86±5	81±8	85±6
V_3	390±33	403±17	252±22 $p_1 < 0,02$	259±24 $p_1 < 0,01$
V_4	103±8	111±9	100±9	101±9
V_3/V_2	4,6±0,2	4,8±0,3	3,1±0,14 $p_1 < 0,01$	3,0±0,18 $p_1 < 0,01$
3-Оксибутират				
V_2	27±3	—	32±4	—
V_3	246±17	—	150±29 $p_1 < 0,05$	—
V_4	40±6	—	46±14	—
V_3/V_2	9,4±0,5	—	4,7±0,5 $p_1 < 0,002$	—

Пр и м е ч а н и е. Скорость дыхания МХ выражена в наноатомах кислорода в 1 мин на 1 мг белка; V_2 — скорость дыхания до добавления АДФ, V_3 — после добавления АДФ, V_4 — после окончания фосфорилирования АДФ; мембранный потенциал выражен в единицах оптической плотности на 0,5 мг белка МХ; число опытов 7.

женное истощение макроэнергетических связей адениннуклеотидной системы. На это указывают и изменения энергетического заряда Аткинсона под влиянием РО

$$\frac{1}{2} \frac{\text{АДФ} + 2 \text{АТФ}}{\text{АТФ} + \text{АДФ} + \text{АМФ}}$$

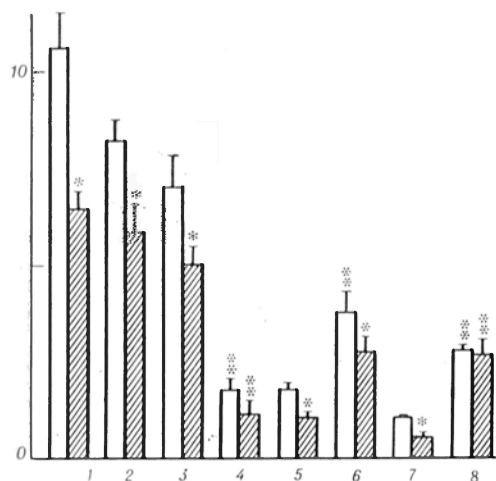
в контроле он снижался с $0,837 \pm 0,018$ до $0,451 \pm 0,005$, при ишемии — с $0,823 \pm 0,037$ до $0,338 \pm 0,058$. Отношение АТФ/АДФ уменьшалось в 8 раз как в контрольных, так и в ишемических МХ.

При ишемии содержание АТФ уменьшалось в одинаковой степени (на 33%) в МХ — РО и МХ + РО, однако в последнем случае эффект был статистически недостоверным — при низком уровне содержания АТФ в контрольных МХ + РО труднее проследить за влиянием ишемии на этот параметр. Содержание других АН при ишемии уменьшалось следующим образом: АДФ — на 40% в МХ — РО и на 53% в МХ + РО, АМФ — на 45% в первом случае и не изменялось во втором, общее содержание АН — на 39 и 29% соответственно. Интересно отметить, что ишемия вызвала уменьшение энергетического заряда Аткинсона на 25% в МХ + РО, в то время как в МХ — РО эффект ишемии не был обнаружен. Это можно объяснить тем, что во время выделения без ингибиторов дыхания МХ могут восста-

новить содержание АН. Поэтому истинные концентрации АН ишемических МХ отражают именно МХ, выделенные с РО, который предупреждает такое восстановление.

На дыхательную активность МХ, сопряженность окислительного фосфорилирования, а также на мембранный потенциал РО не оказал влияния ни в контроле, ни при ишемии (табл. 3). Под влиянием ишемии скорость окисления сукцината в состоянии 3 уменьшалась в одинаковой степени в МХ — РО (на 35%) и в МХ + РО (на 36%), а скорость окисления 3-оксибутирата в состоянии 3 (в МХ — РО) — на 39%. Статистически достоверное снижение мембранного потенциала (на 17%) при ишемии было обнаружено только в МХ + РО, хотя сходное по абсолютной величине уменьшение его наблюдали и в МХ — РО.

Следовательно, МХ, выделенные с РО, по сравнению с МХ — РО содержат больше ацил-КоА, НЭЖК, ЛФХ и являются менее энергизованными (по содержанию АН). Уменьшение содержания АТФ, видимо, является одной из причин повышения гидролиза фосфолипидов в контроле. Заслуживает внимания тот факт, что все эти изменения не отражались на функциональной активности МХ. Вызванные РО изменения в составе АН могут восстановиться в при-



Влияние ишемии и РО на аденинуклеотидный состав МХ сердца кролика.

По оси ординат — содержание АН (в нмоль на 1 мг белка). Светлые столбики — контроль ($n=6$), заштрихованные — ишемия ($n=5$). 1, 2 — общее содержание АН в МХ — РО и МХ+РО соответственно; 3, 4 — АТФ; 5, 6 — АДФ; 7, 8 — АМФ. * — достоверность влияния ишемии, ** — достоверность влияния РО ($p<0,05-0,001$).

сутствии субстрата окисления и кислорода. Наши опыты показали, что в течение 1 мин инкубации с сукцинатом (в ходе полярографического измерения) происходило восстановление содержания АТФ: с 1,06 до 5,96 нмоль на 1 мг белка в контрольных ($n=4$) и с 0,91 до 2,67 нмоль на 1 мг белка в ишемических ($n=2$) МХ+РО. Контрольные опыты на МХ с повышенным содержанием ацил-КоА показали, что во время аэробной инкубации с сукцинатом концентрация ацил-КоА снижалась незначительно (на 16%, $n=3$). Пока неясно, возможно ли значительное рециклирование ЛФХ за время инкубации с сукцинатом (около 1 мин). Можно полагать, что увеличение содержания свободных жирных кислот и лизоформ фосфолипидов под влиянием РО не является достаточным для нарушения функциональной активности МХ. Увеличение дезэнергизации при ишемии сопровождалось повышением гидролиза фосфолипидов и нарушением функций МХ.

Следует отметить, что повышение содержания ацил-КоА не влияет на дыхание МХ. На изолированных МХ было установлено, что длинноцепочечные ацил-КоА являются эффективными ингибиторами АНТ со стороны цитозоля [15]. Подавление АНТ со стороны матрикса показано только на субмитохондриальных частицах [7, 11], но не на

интактных МХ [13]. Нашим методом определяется внутримитохондриальный и связанный с мембранами МХ ацил-КоА. Можно полагать, что основная их часть локализована в матриксе, так как показано, что 95% клеточного КоА содержится внутри МХ [10]. В таком случае наши данные можно объяснить следующим образом: либо внутримитохондриальные ацил-КоА не подавляют АНТ, либо АНТ не лимитирует окислительное фосфорилирование. Это ставит под сомнение возможность реализации механизма подавления энергетического метаболизма сердечной клетки через внутримитохондриальные ацил-КоА и АНТ. Если такой механизм имел бы место, даже небольшое повышение содержания ацил-КоА оказывало бы ощутимое воздействие на функции МХ. Однако проблема физиологической роли ацил-КоА требует дальнейшего изучения:

Изложенное выше позволяет предложить метод изолирования МХ с РО для изучения роли различных метаболитов в энергетическом метаболизме МХ. По всей вероятности, содержание метаболитов в МХ ишемической клетки более четко отражают МХ, выделенные с РО.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дзея П. П., Толейкис А. И., Прашкявичюс А. К. — Вopr. мед. химии, 1980, № 5, с. 591—594.
2. Прашкявичюс А. К., Бакиште Л. И., Толейкис А. И. — В кн.: Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины. Каунас, 1981, с. 147—158.
3. Толейкис А. И., Дагис А. И., Прашкявичюс А. К. — Вopr. мед. химии, 1982, № 4, с. 64.
4. Akerman K. E. O., Wikström M. K. F. — FEBS Letters, 1976, vol. 68, p. 191—197.
5. Armiger L. C., Seelye R. N., Carnell V. M. et al. — Lab. Invest., 1976, vol. 34, p. 1357—1362.
6. Bakšys L., Bartkienė V., Praskevičius A., Toleikis A. — J. molec. cell. Cardiol., 1980, vol. 12, Suppl. 1, p. 11.
7. Chua B. H., Schrago E. — J. biol. Chem., 1977, vol. 252, p. 6711—6714.
8. Eslabrook R. W., Williamson J. R., Frenkel R. et al. — Meth. Enzymol., 1967, vol. 10, p. 474—482.
9. Feuvray D., Ploët J. — Circulat. Res., 1981, vol. 48, p. 740—747.
10. Idell-Wenger J. A., Grotjohann L. W., Neely J. R. — J. biol. Chem., 1978, vol. 253, p. 4310—4318.
11. Klingenberg M. — Europ. J. Biochem., 1977, vol. 76, p. 553—565.
12. Kotaka K., Miyazaki Y., Ogawa K. et al. — J. molec. cell. Cardiol., 1982, vol. 14, p. 223—231.

13. La Noue K. F., Wals J. A., Koch C. D. — Amer. J. Physiol., 1981, vol. 241, p. H663—671.
14. Lochner A., Van Niekierk I., Kolze J. C. N. — J. molec. cell. Cardiol., 1981, vol. 13, p. 991—997.
15. Pande S. V., Blanchaer M. C. — J. biol. Chem., 1971, vol. 246, p. 402—411.
16. Shug A. L., Shrago E., Billar N. et al. — Amer. J. Physiol., 1975, vol. 228, p. 689—692.
17. Von Korff R. W. — J. biol. Chem., 1965, vol. 240, p. 1351—1358.
18. Williamson J. R., Corkey B. E. — Meth. Enzymol., 1969, vol. 13, p. 434—513.

Поступила 26.03.84

EFFECT OF ISCHEMIA AND ROTENONE ON THE CONTENT OF LIPIDS, ADENINE NUCLEOTIDES AND FUNCTIONAL ACTIVITY IN HEART MITOCHONDRIA

A. J. Toleikis, V. J. Zilinskiene,
V. J. Borutaite, A. J. Dagys,
A. J. Trumpickas, A. K. Praskevicius

Institute of Cardiovascular Researchs, Medical School, Kaunas

Myocardial mitochondria (MCh), isolated with rotenone (MCh + RO) and in absence

of rotenone (MCh — RO), were studied in rabbits with ischemia (0.5 hr autolysis) and in controls. Content of acyl-CoA was increased by 50 %, linoleic acid — by 49 % and lysophosphatidyl choline — by 37 % in MCh + RO of control animals as compared with the MCh — RO preparation. In the MCh + RO preparation from rabbits with ischemia content of acyl-CoA was increased by 62 %, while concentration of free fatty acids (FFA) and phospholipids was similar to those of the MCh — RO preparation. After isolation of mitochondria with rotenone composition of adenine nucleotides was distinctly altered. Content of ATP was decreased by 27% in mitochondria of both ischemic and control animals, although total amount of adenine nucleotides was decreased only slightly. As shown by estimation of succinate oxidation and membrane potential rotenone did not affect the mitochondrial respiration. In mitochondria of ischemic rabbits concentrations of FFA and lysophosphatidyl choline were increased, whereas content of ATP, total amount of adenine nucleotides, the rate of succinate oxidation and membrane potential were decreased. The method developed, isolation of mitochondria with rotenone, may be used in studies of the role of acyl-CoA in energy metabolism of cells.

УДК 616.127-008.931:577.152.313]-074

Г. К. Парсаданян, Л. П. Тер-Татевосян, И. Г. Асланян, Г. Т. Адунц

ФОСФОПРОТЕИНФОСФАТАЗА СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ. ВЫДЕЛЕНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ФОРМ И ИХ РЕГУЛЯЦИЯ

Институт биохимии АН Армянской ССР, Ереван

Наличие в сердечной мышце системы ферментов, обеспечивающих фосфорилирование — дефосфорилирование ферментных и неферментных белков объясняется как существованием универсальных механизмов регуляции обмена углеводов (и липидов), так и особыми функциями фосфопротеинфосфатаз (ФПФаз), связанных с сократительными белками. Фосфорилирование миокина, по-видимому, является главной регуляторной системой, контролирующей взаимодействие между актином и миокином в гладкой мускулатуре [8, 21]. В сердечной и скелетных мышцах, откуда были изолированы специфические киназы легких цепей миокина, фосфорилирование, по-видимому, играет модулирующую роль [4]. Так, недавно было показано, что фосфорилирование мышечного миокина может коррелировать с посттетаническим потенциалом пикового одиночного со-

кращения [19]. Менее изучены свойства и роль ФПФаз в регуляции метаболизма сердечной мышцы. Поливалентность функций этих фосфатаз предполагает наличие их отдельных специализированных форм. При очистке с помощью хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе ФПФазы из сердца собаки были получены 4 фракции, различающиеся по ряду свойств, и в том числе по чувствительности к различным метаболитам [17]. Наличие множественных форм ФПФаз в экстрактах из сердца собаки было подтверждено [11] выделением с помощью ионообменной хроматографии и гель-фильтрации 5 изоформ, различающихся по молекулярной массе, субстратной специфичности и чувствительности к двухвалентным катионам. Использование метода изоэлектрофокусирования позволило нам также изолировать 5 отдельных форм ФПФазы из сердца