

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича

Архив журнала

## **Вопросы медицинской химии**

*ISSN 0042-8809*

1986

**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*

1986

**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 XXXII

ВЫПУСК 2

МАРТ—АПРЕЛЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

# ВОПРОСЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1986

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. И. МАЗУРОВ (зам. главного редактора), Т. Т. БЕРЕЗОВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА,  
В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОК-  
ШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РО-  
ЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ (ответственный секретарь), В. А. САКС, С. Е. СЕ-  
ВЕРИН, 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)  
ТУРАКУЛОВ 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

вотных в условиях хронического раздражения периферического отдела нервной системы оказывает влияние на механизмы развития нервных и нейрогенных дистрофий.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Азипа Я. И. Нейро-гуморальные отношения при первичнодистрофическом процессе. Дис. докт. мед. наук. М., 1970.
2. Бенетато Г., Томуш Л., Миулеску В. и др. — Румын. мед. обозр. 1961, № 2, с. 5—15.
3. Громаковская М. М. Нейро-гуморальные механизмы регуляции мышечной деятельности. М., 1965.
4. Дунаева Л. И., Шрейберг Г. Л. — В кн.: Физиология и биохимия медиаторных процессов. М., 1976, с. 48—51.
5. Егорова Л. К. Характер и некоторые механизмы изменения содержания нейромедиаторов в крови и тканях животных при нарушении трофической функции нервной системы. Дис. канд. биол. наук. М., 1977.
6. Егорова Л. К., Азипа Я. И. — Журн. общ. биол., 1978, т. 39, № 3, с. 422—432.
7. Зубер В. Л. — В кн.: Физиология и биохимия медиаторных процессов. М., 1976, с. 55—57.
8. Курский М. Д., Бакшеев Н. С. Биохимические основы механизма действия серотонина. Киев, 1974.
9. Левковец В. С. — Докл. АН БССР, 1984, т. 28, № 1, с. 88—90.
10. Науменко Е. В., Попова Н. К. Серотонин и мелатонин в регуляции эндокринной системы. Новосибирск, 1975.
11. Рокицкий П. Ф. Основы вариацонной статистики для биологов. Минск, 1961.
12. Слинченко Н. И., Курский М. Д., Федоров А. И. — В кн.: Циклические нуклеотиды. Красноярск, 1976, с. 97—98.
13. Соловьев В. Е., Уразаева З. В. — В кн.: Вопросы теоретической медицины. Чебоксары, 1976, вып. 2, с. 14—16.
14. Талапин В. И. — В кн.: Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины. Минск, 1973, с. 34—35.
15. Bliss E. L., Thatcher W., Alton J. — J. psychol. Res., 1972, vol. 9, p. 71—80.
16. Clark C. D., Weissbach H., Udenfriend S. — J. biol. Chem., 1954, vol. 210, p. 139.
17. Eble J. N., Gowdey C. W., Vane J. R. — Nature. New Biol., 1972, vol. 238, p. 254—256.
18. Eroglu L., Atamer-Simsek S. — Arzneimittel-Forsch., 1980, Bd 30, S. 2115—2117.
19. Gershon M. D., Dreyfus C. F., Pickel V. M. et al. — Proc. nat. Acad. Sci. USA, 1977, vol. 74, p. 3086—3089.
20. Innes J. R. — Brit. J. Pharmacol., 1962, vol. 19, p. 427—441.
21. Kuntzman R., Parkhurst S., Shore A. et al. — J. Neurochem., 1961, vol. 6, p. 226—232.
22. Lambert R., Descos L., Pasquier J., Martin M. L. — Gastroenterologia, 1965, vol. 103, p. 365—381.
23. Pipitone V., Russo R., Vanna F. — Boll. Soc. ital. Biol. sper., 1963, vol. 39, p. 1419—1422.
24. Resnick R. H., Gray S. J. — Gastroenterology, 1961, vol. 41, p. 119.
25. Schwemmler K., Schmid E., Scheiffarth F. et al. — Arzneimittel-Forsch., 1961, Bd 11, S. 616—619.
26. Vermes J., Telegdy G., Lissak K. — Acta physiol. Acad. Sci. hung., 1973, vol. 43, p. 33—42.
27. Zbinden G., Brandl F. — Toxicol. Lett., 1980, vol. 5, p. 125—129.

Поступила 24.04.85

#### ALTERATIONS IN THE STATE OF SEROTONIN METABOLISM IN RATS WITH NEURODYSTROPHIC IMPAIRMENT

L. K. Egorova, Ya. I. Azhipa

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Academy of Sciences of the USSR, Moscow

Some mechanisms of alteration in serotonin content in tissues and an effect of the amine on development of visible trophic impairment in rats were studied under conditions of neurodystrophic impairments which occurred in the animals as a result of chronic stimulation of sciatic nerve. A long-term increase in serotonin content in tissues of rats with the neurodystrophic process was due to activation of its synthesis. Elevation in serotonin content in animals under conditions of chronic stimulation of peripheral nervous system might be of importance for development of neural and neurogenic dystrophies.

УДК 616-006.6-092.9-07:616.74-008.931:577.152.1]-074

Л. Т. Литвиненко, Л. Л. Хомякова, В. А. Гаевская

#### СВОЙСТВА МЫШЕЧНОЙ ГЛИЦЕРОЛ-3-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ КРОЛИКОВ С КАРЦИНОМой БРОУНА-ПИРС

Институт биохимии им. А. В. Палладина АН УССР, Киев

Особенностью опухолевой ткани является быстрый неуправляемый рост, который должен быть обеспечен энергетически. Основным источником энергии в опухолях является аэробный гли-

колиз, в формировании которого определенную роль играет глицерофосфатный шунт.

Глицерофосфатный шунт функционирует с участием НАД- и ФАД-зависи-

мых глицерол-3-фосфатдегидрогеназ (Г-3-ФД), связывающих два важнейших энергетических процесса — гликолиз и тканевое дыхание. В опухолевой ткани активность Г-3-ФД (КФ 1.1.1.8), восстанавливающей диоксиацетонфосфат (ДОАФ) с помощью НАД·Н с образованием глицерол-3-фосфата (Г-3-Ф), снижена или совсем отсутствует [7, 10, 11]. Большинство данных этого рода получено с использованием в качестве субстрата не Г-3-Ф, а ДОАФ. В то же время не исключена возможность, что в случае усиления гликолиза обратная реакция с Г-3-Ф в качестве субстрата может преобладать над прямой.

Используя экспериментальную модель карциномы Броуна — Пирс, мы исследовали соотношения прямой и обратной реакции в мышцах кроликов и кристаллических препаратах Г-3-ФД, а также изучили ряд свойств этого фермента при опухолевом росте.

### Методика

Экспериментальную модель карциномы Броуна — Пирс получали путем перевивания в яичко кроликам гомогената ткани опухоли. В работе использовали 10 животных, из которых 6 были с карциномой. Исследовали гомогенаты ткани опухоли и мышц у кроликов с карциномой и у интактных животных, экстрагируя фермент двойным объемом 0,25 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  и кристаллический фермент из мышц тех и других.

Фермент получали по методу Барановского в модификациях [4, 6] и 3—4 раза перекристаллизовывали [4]. Выход кристаллического фермента из мышц был практически одинаков в норме и при патологии и составлял около 60 мг на 1 кг ткани. Чистые кристаллические препараты Г-3-ФД обладали постоянной удельной активностью и не проявляли активности ферментов, близких по высаливанию (альдолазы, триозофосфатизомеразы, лактатдегидрогеназы).

Активность фермента с двумя субстратами

определяли спектрофотометрически по изменению экстинкции при 340 нм [6]. Инкубационная смесь объемом 3 мл для прямой реакции состояла из трис-НСl-буфера pH 7,4, 0,2 мМ НАД·Н и 3 мМ фруктозо-1,6-дифосфата, который под действием альдолазы (0,1 мг) расщеплялся с образованием ДОАФ. Для обратной реакции проба того же объема с глицин-гидразинным буфером pH 9,5 содержала 0,03 М Г-3-Ф и 1,5 мМ НАД. Буфер с нефизиологическим значением pH использовали потому, что окисление Г-3-Ф кристаллической Г-3-ФД в эксперименте происходит с наибольшей скоростью при pH 8,5—10,0 [9]. При работе с экстрактами в обоих случаях прибавляли 5 мМ монойодуксусную кислоту. Реакцию начинали прибавлением 5—10 мкг Г-3-ФД или 0,05—0,2 мл экстракта. Активность рассчитывали, исходя из количества миллимолей субстрата, образовавшегося в пробе на 1 мг белка в 1 мин.

Изофокусирование кристаллического фермента после обессоливания проводили на колонке фирмы ЛКБ в 1 % растворе амфоллина в диапазоне pH 5,0—8,0. Частоту полученных фракций контролировали электрофоретически в 7,5 % ПААГ с добавлением 0,1 % додецилсульфата Na.

Аминокислотный состав фермента здоровых и больных животных определяли на аминокислотном анализаторе марки НД 1200 после гидролиза белка в течение 24 ч при 105 °С в 5,7 н. HCl.

### Результаты и обсуждение

На гомогенатах мышц кроликов с карциномой и интактных животных было установлено, что удельная активность фермента при патологии снижена по сравнению с таковой в норме как в прямой, так и в обратной реакциях, вследствие чего соотношение активностей прямой и обратной реакций практически не изменяется.

Активность фермента в гомогенате опухоли была на порядок ниже, чем в мышечном гомогенате животных с карциномой, а отношение прямой и обратной реакции уменьшено за счет относительного увеличения активности с Г-3-Ф (табл. 1).

Таблица 1

Удельная активность Г-3-Ф животных интактных и с карциномой (в ммольх на 1 мг белка в 1 мин)

Материал	Интактные животные			Кролики с карциномой		
	А	Б	А/Б	А	Б	А/Б
Гомогенат ткани опухоли	—	—	—	0,08	0,02	4,0
Гомогенат мышц	1,74	0,38	5,4	0,67	0,12	5,6
Высокоочищенный фермент	57,0	23,0	2,4	2,5	0,51	4,9
Фракция I	48,0	2,4	20	5,3	2,0	2,7
Фракция II	59,0	29,0	2,0	57,6	24,0	2,4
Фракция III	13,0	1,0	13,0	0	0	0

Примечание. А — скорость прямой реакции с использованием в качестве субстрата ДОАФ; Б — скорость обратной реакции с использованием в качестве субстрата Г-3-Ф; А/Б — отношение скоростей прямой и обратной реакций.

Поскольку снижение активности Г-3-ФД в мышцах при опухолевом росте не исключает изменения свойств фермента, мы исследовали его после выделения из мышц в высокоочищенном кристаллическом состоянии.

Оказалось, что очищенная Г-3-ФД из мышц интактных животных высокоактивна как в прямой, так и в обратной реакции, однако в связи с более высокой скоростью обратной реакции соотношение скоростей прямой и обратной реакций имеет низкую величину. Удельная активность высокоочищенного фермента мышц животных с карциномой в прямой и обратной реакциях ниже, чем в норме, а соотношение скоростей этих реакций возрастает вдвое за счет более высокой скорости обратной реакции.

Г-3-ФД как микрогетерогенный фермент может быть разделена методом электрофореза [2] и изофокусирования [1] на 3 фракции. Не исключено, что отдельные молекулярные формы фермента могут обладать избирательной или преобладающей активностью по отношению к субстратам в мышцах как интактных животных, так и животных с карциномой.

При разделении фермента из мышц нормальных кроликов и животных с опухолью методом изофокусирования в амфоллинах были получены 3 фракции, которые на рисунке обозначены пиками I, II и III. Из рисунка видно, что точки pH изофокусирования пиков I и II в норме и при патологии не совпадают. Для фермента интактных животных они соответствуют pH 5,8, 6,2, 7,6, при карциноме два пика смещены в кислую сторону и точки pH пиков равны 5,4, 5,9, 7,6. При электрофорезе в ПААГ все фракции гомогенны и дви-

жутся одной зоной с разной скоростью.

Поскольку в литературе нет данных о соотношении прямой и обратной реакции для отдельных изоформ фермента из мышц интактных животных, были проведены по этому вопросу специальные исследования. При этом было установлено, что фракции Г-3-ФД из мышц контрольных животных имеют разную активность с ДОАФ и Г-3-Ф. I фракция фермента высокоактивна с ДОАФ и слабоактивна с Г-3-Ф при соотношении скорости прямой и обратной реакций, равном 20.

II фракция (pH 6,2) высокоактивна с обоими субстратами, и соотношение скорости прямой и обратной реакции здесь в 10 раз меньше, чем в I фракции, за счет резко повышенной активности с Г-3-Ф.

III фракция (pH 7,6) малоактивна как в прямой, так и в обратной реакции, и отношение скорости этих реакций ниже, чем в I, и выше, чем во II фракции.

При карциноме активность изоформ Г-3-ФД также неодинакова и фракции I и III отличаются от соответствующих фракций интактных животных. Фракция I малоактивна с ДОАФ и имеет такую же низкую активность с Г-3-Ф, как и в норме. Отношение этих активностей значительно ниже, чем у контрольных животных, за счет снижения скорости прямой реакции. III фракция неактивна с обоими субстратами. Активность II фракции практически одинакова в норме и при патологии.

Если считать II и III фракции мономерными формами, а I фракцию димером, состоящим из субъединиц фракций II и III, тогда при карциноме нормально функционирует только фракция II, а другая мономерная форма полностью выключается. Сравнение скорости прямой и обратной реакции Г-3-ФД при опухолевом росте с нормой выявляет наибольшие различия для димерного фермента в прямой (с ДОАФ) реакции. Скорость обратной (с Г-3-Ф) реакции в первых двух фракциях одинакова с нормой.

Разные спектры изофокусирования Г-3-ФД в норме и при патологии могут быть связаны со структурными различиями фракций, что в свою очередь отразится на их активности. Об этом свидетельствует изменение аминокислотного состава каждой из фракций. Как видно из табл. 2, в первых

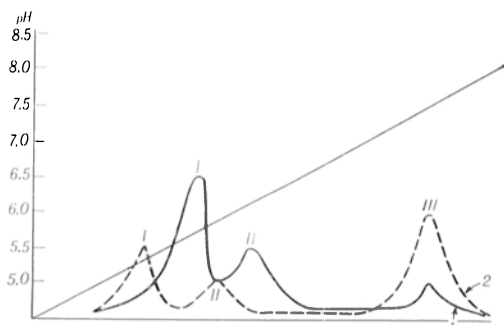


Схема изофокусирования кристаллических препаратов Г-3-ФД, выделенных из мышц кроликов интактных и с карциномой.

I — норма; 2 — опухоль. Остальные обозначения в тексте.

## Аминокислотный состав фракций Г-З-ФД, полученных методом изофокусирования (в %)

Аминокислота	Норма			Опухоль		
	pH 5,8	pH 6,2	pH 7,6	pH 5,4	pH 5,9	pH 7,6
Лизин	6,75	7,53	6,54	5,07	5,58	6,29
Гистидин	2,0	1,95	1,89	1,83	1,65	1,90
Аргинин	3,17	3,21	2,91	3,13	3,19	3,42
Аспарагиновая кислота	9,57	9,56	13,7	14,9	13,4	13,9
Треонин	4,77	4,74	3,78	3,89	4,64	4,57
Серин	4,95	4,37	4,61	4,97	4,28	3,60
Глутаминовая кислота	13,5	13,1	13,6	14,2	13,3	14,1
Пролин	3,83	3,60	3,66	4,04	3,34	3,84
Глицин	9,74	10,8	10,2	13,7	15,6	12,7
Аланин	10,1	10,4	10,2	9,76	10,7	11,4
Валин	9,2	9,74	7,9	4,83	5,54	3,9
Метионин	1,80	2,0	2,7	1,56	1,67	2,38
Изолейцин	5,53	6,13	6,42	3,36	3,07	3,0
Лейцин	10,34	10,81	9,69	10,03	10,55	9,84
Тирозин	1,96	1,77	1,62	2,30	2,31	2,02
Фенилаланин	3,39	3,04	3,13	2,62	3,43	3,10
Сумма кислот	100,6	100,8	101,0	100,4	102,2	100,7

двух фракциях Г-З-ФД, выделенных из мышц животных с карциномой, увеличено содержание аспарагиновой кислоты и снижено содержание лизина, что, по-видимому, смещает рН изоточек в кислую сторону. Для всех трех фракций характерно снижение содержания изолейцина и валина, а также увеличение глицина. Изменения аминокислотного состава изофракций Г-З-ФД из мышц при опухолевом росте свидетельствуют о структурных и функциональных отличиях этого фермента от аналогичного белка в мышцах нормальных кроликов.

Изменение свойств Г-З-ФД установлено нами ранее при экспериментальном атеросклерозе и голодании кроликов [1, 3]. Лабильность ферментативной активности Г-З-ФД показана при ряде других патологий [5, 8, 12].

На клиническом материале опухоли кишечника (Л. Л. Хомякова, неопубликованные данные) обратная реакция с Г-З-Ф была снижена, равна норме или превышала ее. Полученные данные на очищенном ферменте показали, что такой характер активности может зависеть от преобладания одной из форм фермента на разных стадиях заболевания.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Литвиненко Л. Т., Гулий М. Ф., Антоненко Р. Д., Солодова Е. В. — *Вопр. мед. химии*, 1977, № 5, с. 638.

2. Литвиненко Л. Т., Гулий М. Ф., Поликарпова Н. И. — *Укр. біохім. журн.*, 1967, т. 39, с. 620.
3. Литвиненко Л. Т., Гулий М. Ф., Чумаченко Ю. В., Писаревич О. В. — *Укр. біохім. журн.*, 1971, т. 43, с. 436.
4. Мартыненко Ф. П. — Там же, 1962, т. 34, с. 199; 1961, т. 33, с. 476.
5. Скоропадская Л. О., Пушкар М. С. — *Педнатр., акуш. и гинек.*, 1976, № 5, с. 62.
6. Baranowski T. — *J. biol. Chem.*, 1949, vol. 180, p. 535.
7. Boxer G. E., Shonk C. E. — *Cancer Res.*, 1980, vol. 20, p. 85.
8. Harding G., Pheritz E., Morris H., White H. — *Biochem. J.*, 1975, vol. 148, p. 545.
9. Jonng H., Pace N. — *Arch. Biochem.*, 1958, vol. 75, p. 125.
10. Kondstaal J., Makkink B., Overdier S. — *Europ. J. Cancer*, 1975, vol. 11, p. 105.
11. Korubluh R., Ostro M., Rittman L. — *FEBS Lett.*, 1974, vol. 39, p. 190.
12. Kozak L. P., Jensen J. T. — *J. biol. Chem.*, 1974, vol. 249, p. 7775.

Поступила 25.04.85

## PROPERTIES OF MUSCULAR GLYCEROL-3-PHOSPHATE DEHYDROGENASE IN RABBITS WITH BROWN-PIRS CARCINOMA

L. T. Litvinenko, L. L. Khomyakova,  
V. A. Gaevskaya

A. V. Palladin Institute of Biochemistry, Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

Specific activity of glycerol-3-phosphate dehydrogenase, estimated in direct and reverse reactions, was decreased, as compared with normal state, without any alterations in the ratio of activities, in muscle homogenates of rabbits with Brown-Pirs carcinoma. The enzymatic activity was decreased by an order of magnitude in homogenates of the tumor as

compared with muscle homogenates of the tumor-bearing animals simultaneously with relative stimulation of the reverse reaction. Specific activity of the crystalline enzyme from muscles of tumor-bearing animals was decreased as compared with normal tissues but the ratio of activities was 2-fold increased due to the reverse reaction. In the carcinoma activity of one of the three enzyme fractions, obtained after isoelectrofocusing, was similar to the

control values; in the second fraction the ratio of activities was decreased due to inhibition of the direct reaction, the third fraction was inactive. Amino acid composition of crystalline glycerol-3-phosphate dehydrogenase, isolated from tumor-bearing animals, was different in content of 5 amino acids from the enzyme amino acid composition of controls, thus suggesting the structural differences of the proteins from these fractions.

УДК 612.822.1.015.1:577.152.311]-06:612.592

Э. З. Эмирбеков, Н. К. Кличханов

## АТФазная И АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ МОЗГА ПРИ ГИПОТЕРМИИ

Кафедра биохимии и проблемная лаборатория нейробиологии Дагестанского университета,  
Махачкала

Гипотермия нашла применение в медицинской практике как метод минимализации функций и метаболизма органов и тканей организма [4, 9, 11, 12]. Более широкому использованию метода общего охлаждения препятствует ряд факторов, среди которых центральное место занимают нарушения в мембранных структурах и дискоординация ферментативных процессов [5, 12, 13, 15]. Для выяснения влияния низкой температуры на теплокровный организм важное значение имеет изучение активности мембранных ферментов мозга, участвующих в обеспечении синаптической функции. В настоящей работе изучена активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы и ацетилхолинэстеразы (АХЭ) в различных структурах мозга при гипотермии различной длительности.

$\text{Na}^+$ -АТФазы подавляли добавлением  $10^{-4}$  М строфантина К. Реакцию начинали добавлением 0,2 мл разведенного гомогената (150—200 мкг белка). Пробы инкубировали 15 мин при 37 °С и при температуре тела охлажденного животного (20 °С). Реакцию останавливали добавлением 0,5 мл 20 % ТХУ. Об активности фермента судили по приросту в среде инкубации  $\text{P}_i$  [14]. Активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы выражали в микромолях  $\text{P}_i$  на 1 мг белка за 1 ч. Белок определяли по методу Лоурри [17].

Ацетилхолинэстеразную активность устанавливали модифицированным [10] методом Элмана [16] с использованием в качестве субстрата ацетилтихолинйодида (АТХ). Для исследования брали большие полушария мозга, средний и промежуточный мозг, мост вместе с продолговатым мозгом. 10 % гомогенаты, приготовленные на холодном 0,1 М натрий-фосфатном буфере pH 8,0, после разведения использовали в качестве источника фермента. Пробы инкубировали 20 мин при 37 и 20 °С. Активность АХЭ выражали в микромолях АТХ на 1 г влажной ткани за 1 ч. Полученные данные обрабатывали статистически [7].

### Методика

Опыты проведены на 50 лабораторных белых крысах-самцах массой 150—200 г. Животных охлаждали в течение 1 ч до ректальной температуры 20 °С [1]. В другой серии опытов достигнутую гипотермию пролонгировали в течение 2 ч. Контролем служили интактные крысы. В нужный момент как контрольных, так и подопытных животных декапитировали, быстро извлекали большие полушария мозга и средний мозг вместе с промежуточным. Ткани мозга гомогенизировали в среде, содержащей 0,25 М сахарозу, 1 мМ ЭДТА, pH 7,4 при 2°. Полученные 10 % гомогенаты центрифугировали 10 мин при 600 g. Надосадочную жидкость использовали для определения активности  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы, которую рассчитывали как разность между общей и  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФазой. Среда для определения общей АТФазы содержала (в миллимолях):  $\text{NaCl}$  — 130,  $\text{KCl}$  — 20, АТФ — 3,  $\text{MgCl}_2$  — 3, трис — 30, pH 7,4 при 37 и 20 °С; при определении  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФазы активность  $\text{K}^+$ ,

### Результаты и обсуждение

При снижении температуры инкубации гомогенатов больших полушарий, а также среднего и промежуточного мозга с 37 до 20 °С активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы в гомогенатах мозга интактных крыс уменьшается соответственно в 2,6 и 2,7 раза, а у животных, охлажденных до 20 °С, — в 3,5 и 3 раза (табл. 1).

Охлаждение животных до 20 °С не влияет на активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы печени, измеряемой при 20 °С. В случае пролонгирования гипотермии до 2 ч активность этого фермента в среднем и промежуточном мозге снижается в 2 раза.

При инкубации гомогенатов при температуре 37 °С охлаждение живот-