

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:

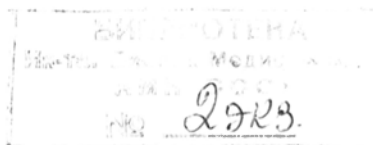
Главный редактор С. С. ДЕБОВ

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

9. Майстрах Е. В. Патологическая физиология охлаждения человека. Л., 1975.
10. Маслова М. Н., Резник Л. В. — Укр. биохим. журн., 1976, т. 48, № 4, с. 450—454.
11. Мешалкин Е. В., Верецагин И. П., Шунькин А. В. и др. — В кн.: Важнейшие теоретические проблемы терморегуляции. Новосибирск, 1982, с. 159—160.
12. Петров И. Р., Гублер Е. В. Искусственная гипотермия. Л., 1961.
13. Проссер Л. — В кн.: Сравнительная физиология животных. М., 1977, т. 2, с. 84—209.
14. Рожанец В. В., Козлова В. П., Родина Р. И. и др. — Биохимия, 1978, т. 43, № 5, с. 892—898.
15. Эмирбеков Э. З., Абдуллаев Р. А., Исмаилов И. А. — В кн.: Биохимия животных и человека. Киев, 1980, вып. 4, с. 84—90.
16. Ellman G. L., Courtney K. D., Andres V. Jr., Featherstone R. M. — Biochem. Pharmacol., 1961, vol. 7, p. 88—95.
17. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. — J. biol. Chem., 1951, vol. 193, p. 265—275.

Поступила 25.04.85

## ATPase AND ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITIES IN BRAIN IN HYPOTHERMIA

E. Z. Emirbekov, N. K. Klichkhanov

Dagestan State University, Makhach-Kala

Short-term hypothermia, caused by cooling of rats down to 20°, decreased distinctly the Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity in brain homogenates incubated at 37° and did not affect the enzyme activity in the homogenates incubated at 20°. The longer hypothermia (2 hrs at 20°) did not affect the Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity at 37° (during incubation) and decreased the enzymatic activity in homogenates of middle brain and diencephalon at 20° during the incubation. Contrary to Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase, the activity of acetylcholinesterase was markedly increased in brain tissues of rats with hypothermia (irrespective of the temperature of incubation) as compared with control animals.

УДК 616.89-008.441.13-056-07:616.36-008.931:577.152.1]-092.9

А. А. Баньковский, Ю. М. Островский, В. И. Сатановская

## ИЗОФЕРМЕНТЫ АЛЬДЕГИДДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПЕЧЕНИ И ИХ РОЛЬ В ПРЕДПОЧТЕНИИ КРЫСАМИ ЭТАНОЛА

Отдел регуляции обмена веществ АН БССР, Гродно

Альдегиддегидрогеназа (АльдГ; КФ 1.2.1.3) обладает широкой субстратной специфичностью, окисляя до соответствующих кислот как алифатические, так и ароматические альдегиды. У млекопитающих обнаружены две группы АльДГ с высокой и низкой  $K_m$  к альдегидам. Ферменты различаются по сродству к коферментам (НАД, НАДФ), субклеточной локализации и чувствительности к ингибиторам [1, 3, 4]. Несмотря на то, что изучению этого фермента посвящено большое число работ [5—7, 9—11], вопрос о полиморфизме изоферментов в разных тканях, у различных видов животных и человека продолжает оставаться спорным [7, 9, 11].

При алкогольной интоксикации более 85 % ацетальдегида, образующегося из этанола, окисляется АльДГ в митохондриях печени крыс [11]. В последние годы стали проводиться исследования особенностей изоферментного спектра АльДГ в тканях человека [7, 8], при этом некоторые изоферменты рассматривались как генетические маркеры предрасположенности к потреблению алкоголя.

Исследован изоферментный спектр

АльдГ у крыс обоего пола, предпочитающих этанол, и нормальных животных в целях выявления закономерных связей между количеством множественных форм АльДГ и предпочтением растворов этанола или воды.

### Методика

Для отбора крыс, предпочитающих потреблять раствор этанола или воду, применен метод, разработанный в отделе регуляции обмена веществ АН БССР [2], позволяющий выявить крыс, предрасположенных к потреблению алкоголя при минимальном контакте животных с этанолом. Промежуточная группа крыс, не проявляющая явного предпочтения к растворам этанола или воды, была использована для моделирования хронической алкогольной интоксикации.

В эксперименте были использованы животные обоего пола массой 160—180 г. Образцы печени крыс обрабатывали следующим образом: гомогенаты готовили на дистиллированной воде в соотношении 1:10 в стеклянном гомогенизаторе и центрифугировали 60 мин при 48 000 g. 0,1—0,2 мл надосадочной жидкости, содержание 100—150 мкг белка, наносили на 7 % полиакриламидный гель (ПААГ). Электрофорез проводили при силе тока 2,5 мА в течение 120 мин. Все этапы осуществляли при 4 °С. После электрофореза гели помещали в пробирки с инкубационной средой, содержащей 0,08 М фосфатный буфер pH 8,8; НАД — 10 мл/мл; фенилметасульфат — 0,3 мг/мл; нитротетра-

Рис. 1. Частота встречаемости изоферментов АльДГ печени в общей популяции крыс:

1, 2 — цитозольная фракция, 3, 4 — митохондриальная, ОЭП — относительная электрофоретическая подвижность, а — диаграмма, б — фореграмма.

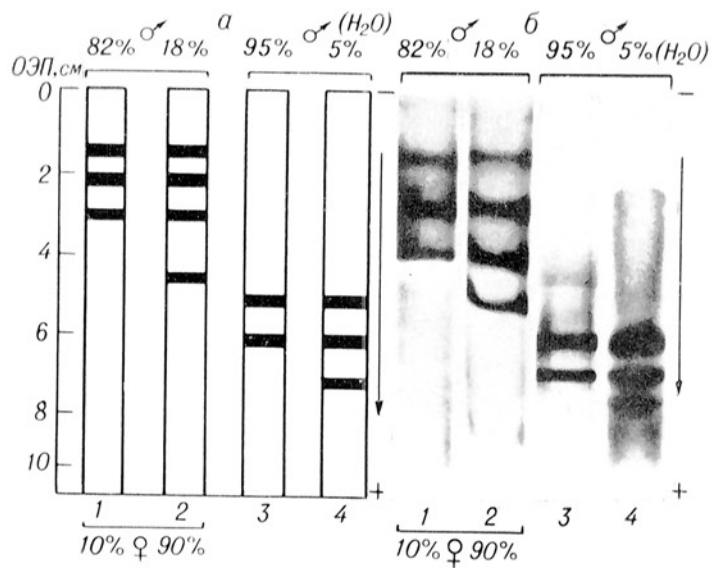
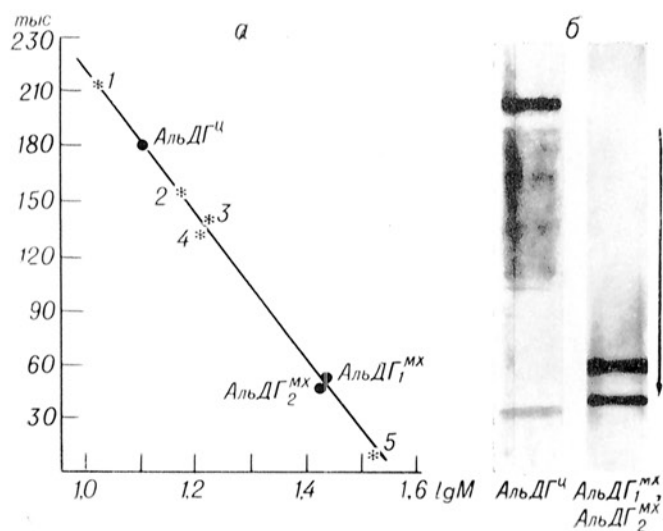
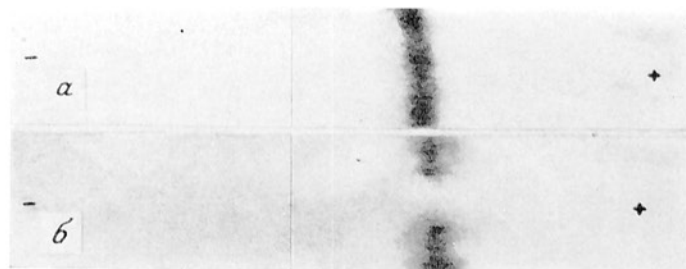


Рис. 2. Определение молекулярной массы митохондриальной и цитозольной фракций печени крыс при электрофорезе в 7 % ПААГ с додецилсульфатом натрия.

По оси абсцисс — обратные логарифмы молекулярной массы; по оси ординат — молекулярная масса (в тысячах дальтон). а — графическое изображение; б — фореграмма. АльДГ<sup>ц</sup> — молекулярная масса АльДГ цитозоля, АльДГ<sup>мх</sup> — молекулярные массы АльДГ митохондрий. 1 — альбумин бычий; 2 — альбумин бычий (димер); 3 — глутаматдегидрогеназа; 4 — лактатдегидрогеназа; 5 — пананин.



Электрофорезграммы гепарина (а) и комплекса гепарин — ДГФ (б). Окраска азуром II.



золневый синий — 9 мг/мл; пипразол — 1,4 мг/мл; субстраты (ацетальдегид, пропионовый альдегид, бензальдегид, гликолевый альдегид) в концентрации 2,5—20 мМ. В моделях с предпочтением этанола или воды использовали только ацетальдегид в концентрации 5 мМ. Все вышеперечисленные компоненты инкубационной среды в равном количестве по 0,5 мл вносили в пробирки и термостатировали при 37 °С в течение 10 мин [1, 2, 6]. Конечный объем проб составлял 3 мл.

Элюирование из ПААГ производили в два этапа: сначала вырезанные столбики гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе в соотношении 0,08 М 1 : 1 с фосфатным буфером pH 8,8, затем полученный гомогенат наносили на зону старта 1 % агарозного геля. Электрофорез проводили в течение 45 мин при силе тока 2,5 мА на колонку. После этого известные зоны гелей гомогенизировали в гомогенизаторе с тефлоновым пестиком и центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин. Надосадочную жидкость исследовали на наличие АльДГ активности.

Митохондриальную фракцию из печени крыс выделяли общепринятым методом [11].

## Результаты и обсуждение

В митохондриях печени общей популяции интактных крыс были обнаружены две активные НАД-зависимые фракции АльДГ: АльДГ<sub>1</sub><sup>мх</sup> и АльДГ<sub>2</sub><sup>мх</sup> (рис. 1, см. вклейку), для которых лучшими субстратами были ацетальдегид и гликолевый альдегид. Эти изоферменты взаимодействовали также с НАДФ в качестве кофермента.

Цитозольная фракция печени интактных крыс при электрофорезе в ПААГ содержала 4 окрашенных НАД-зависимых изофермента:

АльДГ<sub>1</sub><sup>ц</sup>, АльДГ<sub>2</sub><sup>ц</sup>, АльДГ<sub>3</sub><sup>ц</sup> и АльДГ<sub>4</sub><sup>ц</sup>.

Обработка этих гелей уксусным, пропионовым, гликолевым или бензальдегидом в концентрации 2—5 мМ не выявила различий по степени окраски белковых полос. При более высоких концентрациях альдегидов (10—20 мМ) появились отчетливые различия отдельных изоферментов. Так, при добавлении указанных альдегидов в среду инкубации интенсивность окрашивания белковых полос АльДГ<sup>ц</sup> нарастала в ряду: ацетальдегид < пропионовый альдегид < бензальдегид < гликолевый альдегид.

При электрофоретическом разделении белков митохондрий печени крыс, предпочитающих воду, был обнаружен еще один изофермент, отличающийся от известных изоформ АльДГ<sup>мх</sup> по относительной электрофоретической под-

вижности (см. рис. 1). Обычно исследователи находят не более двух изоэнзимов в данной фракции [9, 12].

Обнаруженный нами изофермент проявлял активность при инкубации с ацетальдегидом, пропионовым и гликолевым альдегидами в концентрации 2,5—20 мМ. Элюат этой фракции из полиакриламида при хранении в течение месяца при —20 °С не терял своей активности.

При обработке додецилсульфатом натрия ферментов цитозоля и митохондрий, осажденных сульфатом аммония (50 % насыщения), оказалось, что в цитозоле появилась полоса, имеющая молекулярную массу около 180 000 Д (рис. 2, см. вклейку). Ферменты митохондрий при электрофорезе распались на две полосы, молекулярные массы которых составляли соответственно 52 000 и 56 000 Д (см. рис. 2).

В ходе исследований удалось установить некоторые закономерности, связанные с различиями по полу и предпочтению потребления этанола или воды.

Как было отмечено выше, у самцов общей популяции в норме в митохондриальной фракции имеются два изоэнзима АльДГ<sub>1</sub><sup>мх</sup> и АльДГ<sub>2</sub><sup>мх</sup>. У животных, предпочитающих воду, количество изоферментов увеличиваются в 5 % случаев до 3. Соответствующие им полосы активно окрашиваются при инкубации со всеми исследованными альдегидами в концентрации 2—5 мМ (см. рис. 1).

В цитозольной фракции печени крыс обнаружены половые различия в количестве множественных форм АльДГ. Так, у самцов 3 полосы выявляются в 82 % случаев, 4 — в 18 %, у самок 4 полосы — в 90 % случаев, 3 — в 10 % (см. рис. 1). После разделения этих крыс по признаку предпочтения этанола на две крайние группы (предпочитающих воду или этанол) обнаружены следующие закономерности: у самцов, предпочитающих этанол, активность АльДГ<sub>1</sub><sup>ц</sup>, АльДГ<sub>2</sub><sup>ц</sup> и АльДГ<sub>3</sub><sup>ц</sup> ниже на 39,34 и 38 % соответственно ( $P < 0,01$ ), у самок, предпочитающих этанол, активность АльДГ<sub>1</sub><sup>ц</sup> и АльДГ<sub>3</sub><sup>ц</sup> выше на 27 и 32 % ( $P < 0,05$ ), чем в исходной популяции. У самцов и самок, предпочитающих воду, достоверных различий в активности и количестве

изоформ АльДГ не обнаружено. Таким образом, в данном случае отбор крыс позволил выявить половой полиморфизм в активности цитозольных АльДГ у крыс, предпочитающих этанол.

Необходимо отметить, что при отборе животных по признаку предрасположенности к этанолу (за последние 5 лет  $n=587$ ) процент крыс, предпочитающих этанол, среди общей популяции составлял для самцов  $\sim 16$ , для самок  $\sim 10$ , т. е. он не совпадал с распределением у животных разного пола вариантов с преобладанием только трех или только четырех цитозольных изоэнзимов.

По-видимому, нельзя отождествлять феномен предпочтения этанола с изначальной к нему чувствительностью. На основании полученных данных пока невозможно дать однозначный ответ о наличии корреляции между активностью или присутствием какого-либо изофермента АльДГ цитозоля и митохондрий печени и предпочтительностью к этанолу.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Баньковский А. А. — В кн.: Биохимия алкоголизма. Минск, 1980, с. 16.
2. Островский Ю. М., Садовник М. Н., Ведицко М. Г., Горенштейн Б. И. — Вестн АН БССР, 1976, № 5, с. 96—99.

3. Deitrich R. A. — Biochem. Pharmacol., 1966, vol. 15, p. 1911—1922.
4. Deitrich R. A., Troxell P. A. — Arch. Biochem., 1975, vol. 166, p. 543—548.
5. Deitrich R. A., Collins A. G., Erwin V. G. — J. biol. Chem., 1972, vol. 247, p. 7232—7236.
6. Feinstein R. N., Cameron E. C. — Biochem. biophys. Res. Commun., 1972, vol. 48, p. 1140—1146.
7. Goedde H. W., Harada S., Agarwal D. P. — Hum. Genet., 1979, vol. 51, p. 331—334.
8. Harada S., Misawa S., Agarwal D. P., Goedde H. W. — Amer. J. hum. Genet., 1980, vol. 32, p. 8—15.
9. Thurman R. G. — In: Alcohol and Aldehyde Metabolizing Systems. New York, 1974, vol. 1, p. 101—113.
10. Tollmar S. O. C., Petersson H., Kiessling K. H. — Biochem. J., 1973, vol. 135, p. 577—586.
11. Tollmar S. O. C. — Acta Univ. Upsal., 1974, N 289, p. 1—45.
12. Worsford M., Marshall M. J., Ellis E. B. — Analyt. Biochem., 1977, vol. 79, p. 152—156.

Поступила 25.01.85

#### ISOENZYMES OF ALDEHYDE DEHYDROGENASE IN RAT LIVER AND ITS POSSIBLE ROLE IN PREFERENCE TO ETHANOL

A. A. Bankovsky, Yu. M. Ostrovsky,  
V. I. Satanovskaya

Institute of Biochemistry, Academy of Sciences  
of the Byelorussian SSR, Grodno

Isoenzymatic spectrum of aldehyde dehydrogenase (AIDH) has been studied in the liver of rats of both sexes. The absence or presence of the fourth isoenzyme of AIDH is apparently an indicator of predisposition of rats to ethanol consumption.

УДК 616.33/.34 + 616.24]-006.6-07:[616.153.1:577.152.143 + 616.154:577.175.823

Н. А. Филатова

#### АКТИВНОСТЬ АМИНОКСИДАЗЫ И СОДЕРЖАНИЕ СЕРОТОНИНА В КРОВИ ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА И ЛЕГКИХ

Лаборатория физиологии клетки Института цитологии АН СССР, Ленинград

За последние годы получен значительный экспериментальный материал о роли биогенных аминов, и в том числе серотонина, в разнообразных физиологических и патологических процессах [6]. Ключевыми ферментами обмена этих соединений являются аминоксидазы (АО). Следует отметить, что при их участии в процессе окислительного дезаминирования биогенных аминов образуются соединения, обладающие специфическими свойствами и высокой биологической активностью [2]. В настоящее время имеются данные о существенных измене-

ниях активности сывороточных и тканевых АО у больных со злокачественными опухолями различной локализации [3]. Как известно, существует несколько основных типов АО: моноамин:  $O_2$ -оксидоредуктаза дезаминирующая (МАО, КФ 1.4.3.4), диамин:  $O_2$ -оксидоредуктаза (ДАО, КФ 1.4.3.6) и сывороточная АО.

Показано, что при раке легких и щитовидной железы происходит увеличение активности ДАО сыворотки крови (с  $^{14}C$ -путресцином в качестве субстрата) [11, 12]. При изучении активности тромбоцитарной МАО (с