

Архив журнала

## Вопросы медицинской химии

*ISSN 0042-8809*

1989 том 35 выпуск 3

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

## Voprosy meditsinskoï khimii

The journal archive

*ISSN 0042-8809*

1989 volume 35 issue 3

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

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

ТОМ 35

ВЫПУСК 3

МАЙ — ИЮНЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

# ВОПРОСЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1989



## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. Б. СПИРИЧЕВ (зам. редактора), И. П. АШМАРИН, Т. Т. БЕРЕЗОВ, А. А. ВАСИЛЬЕВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, В. Л. КОЗЕЛЬЦЕВ (ответственный секретарь), А. И. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ, В. А. САКС, С. Е. СЕВЕРИН, В. А. ТУТЕЛЬЯН

## 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)

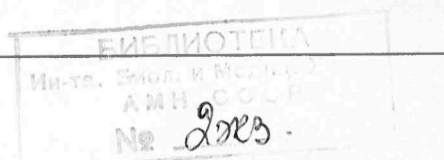
ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)

ТЯХЕПЫЛД Л. Я. (Тарту)

ШАПОВ В. С. (Москва)

ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)

ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)



# GLUCONEOGENESIS IN RAT LIVER TISSUE DURING THE RESTORATION PERIOD AFTER LONG-TERM HYPOKINESIA

S. M. Yershikov

Chair of Biochemistry, Medical School, Yaroslavl

Gluconeogenesis was studied in liver tissue of 60 rats within the period of readaptation after 60 days of hypokinesia. Biosynthesis of glucose from alanine, aspartic-, glutamic-,  $\alpha$ -ke-

toglutaric and pyruvic acids as well as from glycerol was distinctly inhibited as a result of long-term hypokinesia. Stimulation of gluconeogenesis was noted during the beginning of the readaptation period within 1-7 days, which caused the "superrestoration" of glycogen content in liver tissue. The rate of glucose synthesis was decreased within the later period (15 days) of readaptation. The specific properties of the restoration period should be considered in working out of the rehabilitation courses.

УДК 616.36-018.1:576.311.347]-02:615.919]-07

Л. В. Натанзон, Ю. В. Галаев

## ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭНДОТОКСИНА НА АКТИВНОСТЬ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ

Волгоградский медицинский институт

Моноаминоксидаза (МАО; КФ 1.4.3.4) — флавиносодержащий тиоловый фермент, локализованный преимущественно в мембранах митохондрий. Субстратная специфичность МАО зависит от уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ), составляющих окружающую фермент мембрану. При высокой интенсивности ПОЛ окисляются SH-группы МАО, и фермент начинает дезаминировать диамины и полиамины [2].

Поскольку в первые часы после введения бактериальный эндотоксин локализуется преимущественно в печени экспериментальных животных [10] и в течение первых 8—9 ч интоксикации в печени активируются процессы ПОЛ [9], представлялось интересным исследовать, насколько прочно удерживается в мембране фермент и как изменяются свойства МАО митохондрий печени.

### Методика

В работе использовали беспородных белых мышей обоего пола массой 20—23 г. Животным внутрибрюшинно вводили растворенный в 0,5 мл стерильного физиологического раствора эндотоксин в дозе 10 мг на 1 кг живой массы ( $LD_{50}$ ), выделенный по методу [8] из штамма № 79 *Salmonella thyphimurium*, полученного из ГНИИСКМБ им. Л. А. Тарасевича. Контрольным животным внутрибрюшинно вводили 0,5 мл стерильного физиологического раствора.

Контрольных и опытных животных декапитировали одновременно через 3, 6 и 9 ч после введения эндотоксина. Митохондрии выделяли сразу после декапитации животных в холодной камере (0—2 °C) с использованием охлажденной среды выделения (KCl 0,15 M,

K-фосфатный буфер 5 mM pH 7,4).

Печень отмывали от крови средней выделения, помещали в гомогенизатор, добавляли среду выделения (при соотношении ткани и среды выделения 1:7), гомогенизировали в течение 30—40 с, дополнительно охлаждая гомогенизатор льдом. Полученный гомогенат на центрифуге ЦЛР-1 в течение 10 мин при 600 g. Для осаждения митохондриальной фракции супернатант центрифугировали в продолжении 15 мин при 6000 g. Отдельно отбিরали надосадочную жидкость и суспензию митохондрий и замораживали при —24 °C. Активность МАО и уровень ПОЛ определяли на следующий день.

Активность МАО в митохондриальной фракции и надосадочной жидкости оценивали по количеству выделяемого аммиака. Состав проб: 0,9 мл 0,1 M K-фосфатного буфера (pH 7,4), 16 мл 10 mM раствора субстрата, 0,04 мл суспензии митохондрий или 0,1 мл надосадочной жидкости. Объем проб доводили до 1,8 мл бидистиллированной водой. Инкубировали в течение 30 мин при 37 °C в атмосфере кислорода. В качестве субстратов использовали тирамина гидрохлорид («Merck», ФРГ) и кадаверин («Fergak», ФРГ).

Реакцию останавливали добавлением 0,2 мл 50 % трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Параллельно с опытными ставили контрольные пробы, в которые ТХУ добавляли до инкубации. Пробы центрифугировали в течение 5 мин при 6000 g, далее определение вели по методу [6].

Уровень ПОЛ в митохондриях определяли по количеству малонового диальдегида (МДА), образующего окрашенный комплекс с тиобарбитуровой кислотой, по методу [7]. Концентрацию белка определяли биуретовым методом [1]. Для обработки результатов использовали критерий Вилкоксона — Манна — Уитни [5].

### Результаты и обсуждение

Как видно из таблицы, уровень ПОЛ в митохондриях эндотоксемированных животных повышался уже через 3 ч

# Влияние бактериального эндотоксина на активность МАО и уровень ПОЛ в митохондриях печени мышей

Срок после введения эндотоксина, ч	Активность МАО, нмоль/мин на 1 мг белка			Содержание МДА, мкмоль на 1 мг белка
	митохондрии	постмитохондриальный надосадок	диаминооксидазная активность	
3:				
контроль	14,6±1,4	0,036	1,0±0,5	1,0±0,10
опыт	15,6±1,6	1,9±1,1*	1,4±0,6	1,4±0,14*
6:				
контроль	23,0±1,8	0,75±0,4	0,4±0,3	0,9±0,09
опыт	15,6±1,3*	2,9±1,7*	1,3±0,5*	1,5±0,08*
9:				
контроль	21,1±1,3	1,2±0,6	0,9±0,3	1,0±0,09
опыт	13,5±0,7*	7,1±2,6*	2,3±0,4*	1,8±0,08*

Примечание. Представлены средние ( $M \pm m$ ) данные из 12 — 15 опытов; звездочка —  $p \leq 0,05$ .

после введения эндотоксина. С увеличением времени интоксикации интенсивность ПОЛ повышалась. Активность МАО в митохондриях через 3 ч после введения эндотоксина не отличалась от контрольного уровня, но через 6 ч достоверно снижалась. Вместе с тем по мере увеличения времени после введения эндотоксина обнаружено нарастание кадавериноксидазной активности и активности МАО в постмитохондриальном надосадке.

Ранее была показана возможность отделения МАО от митохондриальных мембран при некоторых патологиях [3, 4]. Вероятно, нарушение структурной организации мембран вследствие активации процессов ПОЛ при эндотоксемии также приводит к ослаблению связи фермента с митохондриальными мембранами. Можно предположить, что возрастание интенсивности и продолжительности ПОЛ приводит к частичному изменению субстратной специфичности МАО эндотоксемизированных животных и фермент начинает дезаминировать кадаверин — субстрат диаминооксидазы. По-видимому, при эндотоксемии снижение активности МАО в митохондриях печени является результатом как частичного изменения субстратной специфичности, так и выхода некоторого количества фермента из митохондрий.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградов А. Д., Лейкин Ю. Н., Липская Т. Ю. Биохимия митохондрий: Био-

энергетика: Руководство к практическим занятиям по биохимии животных. — М., 1977.

2. Горкин В. З. Аминоксидазы и их значение в медицине. — М., 1981.
3. Горошинская И. А. // Бюл. экспер. биол. — 1985. — № 6. — С. 672—674.
4. Горошинская И. А., Цветненко Е. З., Френкель М. Л. и др. // Укр. биохим. журн. — 1987. — Т. 59, № 2. — С. 84—87.
5. Гублер Е. В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. — Л., 1978.
6. Куркель А. З., Пеккель В. А., Ахметалиева Р. Ж. и др. // Вопр. мед. химии. — 1983. — № 4. — С. 83—87.
7. Маршанский В. Н., Ягужинский Л. С. // Биол. мембраны. — 1983. — Т. 2, № 11. — С. 1081—1086.
8. O'Neill G. J., Todd J. P. // Nature. — 1961. — Vol. 190. — P. 344—345.
9. Sankari S., Pekkanen T. // Acta vet. scand. — 1982. — Vol. 23, N 1. — P. 24—29.
10. Starzecki B., Reddin J. L., Gran A. et al. // Amer. J. Physiol. — 1967. — Vol. 213, N 5. — P. 1065—1071.

Поступила 21.04.88

## EFFECT OF BACTERIAL ENDOTOXIN ON ACTIVITY OF LIVER MITOCHONDRIAL MONOAMINE OXIDASE

L. V. Nalanzon, Yu. V. Galaev

Medical School, Volgograd

An increase of lipid peroxidation and a decrease of the monoamine oxidase (EC 1.4.3.4) activity were found in mice liver mitochondria within 9 hrs of intoxication developed after administration of bacterial endotoxin at a dose corresponding to its LD<sub>50</sub>. The decrease in the monoamine oxidase activity appears to occur due to some alteration of the enzyme substrate specificity as well as to its partial liberation from mitochondrial membrane.