

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

# ВЛИЯНИЕ ОЖГОВОЙ ТРАВМЫ НА АКТИВНОСТЬ НАДФ·Н- И НАД·Н-ЗАВИСИМЫХ КОМПОНЕНТОВ ЦЕПИ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ МИКРОСОМ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ

Кафедра биоорганической и биологической химии Челябинского медицинского института

Одним из актуальных вопросов современной биологии и медицины является исследование кислородзависимых процессов митохондриального и микросомального окисления, их взаимного влияния и связи с другими метаболическими процессами [6]. Это особенно важно учитывать при оценке патохимических особенностей тех заболеваний, характерным признаком которых является возникновение тканевой гипоксии (ожоговая травма, турникетный шок и т. д.).

В предыдущих работах было установлено, что термическая травма приводит к существенному нарушению функционального состояния митохондрий. Одним из важных факторов, вызывающих подобные нарушения, может быть группа биологически активных низко- и среднемолекулярных пептидов, способных индуцировать различные метаболические расстройства и явления токсемии у обожженных [5, 7, 8].

Учитывая тесную связь микросомальных и митохондриальных окислительных процессов, а также важную роль эндоплазматической сети в осуществлении детоксикации экзо- и эндотоксинов, синтезе биологически активных соединений, биотрансформации лекарственных веществ и различных ксенобиотиков, представлялось целесообразным исследовать состояние некоторых участков электро-

транспортной системы микросом в различные периоды после ожоговой травмы.

## Методика

Для изучения ожоговой травмы на процессы микросомального окисления лабораторным беспородным мышам под эфирным наркозом наносили с помощью специально созданной установки с кварцево-галогеновой лампой ожог IIIA—IIIB степени, занимающий около 25% общей поверхности тела.

Микросомы выделяли из печени мышей, как описано Камата и соавт. [12]. Регистрацию поглощения кислорода и определение активности НАДФ·Н- и НАД·Н-оксидоредуктаз микросом проводили, как описано И. И. Карузиной и А. И. Арчаковым [3]. В инкубационной среде, содержащей 1 мМ НАДФ·Н, определяли скорость потребления кислорода с помощью электрода типа электрода Кларка на полярографе LP-7 в присутствии 50 мкМ  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ( $V_{\text{Fe}^{+2}}$ ) и 5 мМ аскорбиновой кислоты ( $V_{\text{аск.}}$ ). При окислении 1 мМ НАД·Н определяли скорость дыхания при добавлении 10 мкМ цитохрома *c* ( $V_{\text{цит.с}}$ ) и 1 мМ ингибитора митохондриального дыхания — ацетонциангидрина ( $V_{\text{ацг}}$ ). Концентрацию белка находили биуретовым методом. Статистическую обработку данных проводили, как описано Г. Ф. Лакиным [4].

## Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований показали, что термическая травма приводила к определенным нарушениям функционирования микросом в разные сроки наблюдения. Через 4 ч после ожога дыхание микросом подопытных животных характеризовалось повышенной скоростью потребления кислорода при окислении НАД·Н в присутствии цитохрома *c* и ацетонциангидрина (табл. 1). Как известно, окисление НАД·Н в микросомах может происходить различными путями [2]. Если в инкубационной среде имеется цитохром *c*, происходит усиление цианидчувствительного дыхания, связанного с межмембранным переносом электронов к митохондриальной цитохромоксидазе, присутствующей во фракции микросом в виде загрязнений. Поэтому более высокая скорость переноса

Таблица 1

Влияние ожоговой травмы на скорость окисления НАД·Н в микросомах печени мышей (в нмоль  $\text{O}_2$  на 1 мг белка в 1 мин;  $M \pm m$ )

Время после ожога, ч	$V_{\text{НАД·Н}}$	$V_{\text{цит.с}}$	$V_{\text{ацг}}$
Контроль	$3,8 \pm 0,5$	$11,8 \pm 0,6$	$6,9 \pm 0,5$
4	$1,0 \pm 0,7$	$16,2 \pm 0,7^*$	$10,8 \pm 0,2^*$
24	$4,4 \pm 0,2$	$12,4 \pm 0,6$	$8,8 \pm 0,4$
72	$8,4 \pm 1,0^*$	$12,6 \pm 2,7$	$8,4 \pm 1,5$
168	$2,2 \pm 0,2^*$	$6,8 \pm 0,3^*$	$4,3 \pm 0,2^*$

Примечание. Как и в последующих таблицах, число опытов в каждой группе ожоговых животных равно 8, в контроле — 16. Здесь и в табл. 2 звездочкой отмечено  $P < 0,05$ .

электронов в такой шунтированной схеме, когда возможен обход двух участков сопряжения окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи и митохондрией, может явиться дополнительным источником восстановительных эквивалентов и соответственно энергии в ранний период ожоговой болезни. Такое состояние «гиперметаболизма» было обнаружено в предыдущих работах и характеризовалось высокой степенью активации дыхания митохондрий в различных метаболических состояниях и увеличением скорости фосфорилирования через 4 ч после ожога [2, 3]. Работа электронтранспортных цепей с повышенной скоростью может привести к истощению метаболических ресурсов. Через сутки после ожога потребление кислорода микросомами подопытных животных практически не отличалось от контроля и осталось примерно на этом же уровне и через 3 сут после травмы. Такое выравнивание, а в дальнейшем (через 7 сут после ожога) и понижение цианидчувствительной компоненты дыхания (см. табл. 1) свидетельствует об определенном нарушении окислительно-восстановительных процессов. Одним из возможных механизмов такого нарушения может быть поступление в клетку различных продуктов распада тканей не только из места поражения, но и из интактных органов, что приводит к дезинтеграции функциональной целостности различных субклеточных структур, в том числе микросом и митохондрий. Так, например, установленное при ожогах появление синильной кислоты, образующейся из муравьинокислого аммония (продукта кожной экскреции) [10], может быть одним из важных факторов, подавляющих митохондриальное дыхание. Вполне вероятно, что другими важными факторами, оказывающими влияние на активность межмембранного переноса электронов, могут быть и разнообразные высокотоксические соединения белковой или пептидной природы, выделенные в настоящее время из различных тканей обожженных [7, 9], а также продукты перекисного окисления липидов [11].

Изучение НАДФ·Н-зависимого микросомального окисления показало, что через 4 ч после ожога поглощение кислорода микросомами печени подопытных животных практически не отличалось от контроля, точно так же как и при окислении НАД·Н (табл. 2). Подобная

Т а б л и ц а 2  
Влияние ожоговой травмы на скорость окисления НАДФ·Н в микросомах печени мышей (в нмоль  $O_2$  на 1 мг белка в мин;  $M \pm m$ )

Время после ожога, ч	$V_{НАДФ \cdot Н}$	$V_{Fe^{2+}}$	$V_{аск}$
Контроль	$4,2 \pm 0,3$	$22,0 \pm 2,8$	$22,3 \pm 2,9$
4	$4,0 \pm 0,2$	$19,7 \pm 4,4$	$22,0 \pm 3,9$
24	$4,4 \pm 0,4$	$18,7 \pm 1,0$	$18,0 \pm 1,1^*$
72	$3,2 \pm 1,2$	$12,7 \pm 1,0^*$	$18,8 \pm 0,8^*$
168	$4,4 \pm 0,8$	$12,5 \pm 1,2^*$	$17,8 \pm 1,7^*$

тенденция сохранялась и в более поздний период, т. е. через 24 ч после травмы. В то же время индукция неферментного перекисного окисления при добавлении в инкубационную среду аскорбата не сопровождалась усилением потребления кислорода по сравнению с контролем. По мнению некоторых авторов [11], это может служить признаком усиления перекисного окисления липидов, когда соответствующие субстраты окисления оказываются к моменту индукции уже в значительной мере окисленными.

Результаты исследований свидетельствуют, по-видимому, что по мере развития патологического процесса происходит понижение способности липидов к окислению и в ферментативной НАДФ·Н-зависимой системе при индукции ионами железа (см. табл. 2). Известно [2], что аскорбатзависимое и ферментное перекисное окисление имеют различные центры радикалообразования, причем в последнем случае они локализируются в непосредственной близости от цитохрома Р-450, сульфгидрильные группы которого могут участвовать не только в инициировании перекисного окисления, но и в реакциях переноса

Т а б л и ц а 3  
Влияние ожоговой травмы на активность НАДФ·Н- и НАД·Н-зависимых редуктаз (в нмоль на 1 мг в 1 мин)

Время после ожога, ч	НАДФ·Н : 2,6-дихлорфенолиндиокси-редуктаза	НАДН:K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]-редуктаза	НАД·Н:цитохром с-редуктаза
Контроль	$74,7 \pm 10,5$	$2198,0 \pm 89,8$	$420,0 \pm 44,0$
4	$67,2 \pm 4,2$	$2211,3 \pm 74,8$	$377,4 \pm 23,5$
24	$63,2 \pm 2,4$	$2442,2 \pm 98,3$	$287,6 \pm 49,7$
72	$64,3 \pm 9,0$	$2307,3 \pm 58,9$	$542,3 \pm 58,4$
168	$57,4 \pm 8,5$	$2064,2 \pm 60,1$	$536,4 \pm 92,1$

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-oxoreductases, 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-