

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

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): NaCl — 130, 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-

Таблица 1

Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФазная активность (в микромолях Р<sub>i</sub> на 1 мг белка в 1 ч) мозга крыс при гипотермии ( $M \pm m$ ;  $n = 6$ )

Животные	Большие полушария		Средний ± промежуточный мозг	
	37 °С	20 °С	37 °С	20 °С
Контрольное	1,78±0,15	0,68±0,02	2,63±0,09	0,98±0,05
Охлажденное до 20 °С	2,16±0,10*	0,61±0,03	3,13±0,16*	1,03±0,02
Подвергнувшееся длительной гипотермии (2 ч при 20 °С)	1,97±0,11	0,67±0,10	2,74±0,07	0,52±0,04*

Примечание. Здесь и в табл. 2 звездочкой обозначены достоверные различия по отношению к контролю при соответствующей температуре инкубации.

ных до 20 °С достоверно повышает активность Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФазы в указанных отделах мозга; увеличение продолжительности гипотермии до 2 ч увеличивает этот эффект (см. табл. 1).

Учитывая, что в поддержании нативной конформации молекулы Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФазы (а значит, и ее активности) важную роль играют фосфолипиды [2], можно думать, что обнаруженные при гипотермии изменения активности фермента объясняются фазовыми переходами липидов [8].

Как видно из табл. 2, активность ацетилхолинэстеразы в гомогенатах больших полушарий мозга, среднего и промежуточного мозга, а также моста и продолговатого мозга снижается при уменьшении температуры инкубации с 37 до 20 °С у интактных крыс соответственно в 1,7, 1,6 и 1,8 раза, а у животных, охлажденных до 20 °С, — в 1,4, 1,4 и 1,6 раза.

Гипотермия как кратковременная, так и длительная приводит к достоверному повышению активности ацетилхолинэстеразы во всех исследованных отделах мозга на 20—25 % независимо от температуры инкубации гомогената (см. табл. 2).

Полученные результаты показывают, что гипотермия оказывает различное

влияние на активность Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФазы и ацетилхолинэстеразы мозга крыс: при температуре инкубации, соответствующей температуре тела охлажденного животного (20 °С), активность Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФазы не изменяется, а ацетилхолинэстеразы — повышается по сравнению с таковой у контрольных (нормотермических) животных.

Разные изменения активности Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФазы и ацетилхолинэстеразы в мозге при гипотермии, видимо, объясняются различным характером их встроения в мембранные структуры [3, 6].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абдуллаев Р. А., Эмирбеков З. З. — Вopr. мед. химии, 1980, № 6, с. 402—408.
2. Болдырев А. А. — Науч. докл. высш. школы. Биол., науки, 1979, № 3, с. 5—17.
3. Болдырев А. А. — Успехи физиол. наук, 1981, т. 12, № 2, с. 91—130.
4. Волколаков Я. В., Лацис А. Т. Глубокая гипотермия в кардиохирургии детского возраста. Л., 1977.
5. Гаевская М. С. Биохимия мозга при умирании и оживлении организма. М., 1963.
6. Казеннов А. М., Маслова М. И. — Журн. эволюц. биохим., 1980, № 5, с. 430—435.
7. Кокунин В. А. — Укр. биохим. журн., 1975, т. 47, № 6, с. 776—791.
8. Крекс Е. М. Липиды клеточных мембран. Л., 1981.

Таблица 2

Ацетилхолинэстеразная активность (в микромолях ацетилтиохолина на 1 г ткани в 1 ч) мозга крыс при гипотермии 20 °С ( $M \pm m$ ;  $n = 6$ )

Животное	Большие полушария		Средний ± промежуточный мозг		Мост ± продолговатый мозг	
	37 °С	20 °С	37 °С	20 °С	37 °С	20 °С
Контрольное	433±12,0	276±2,9	383±12,0	244±6,2	344±10,2	193±5,8
Охлажденное до 20 °С	475±5,5*	338±5,5*	450±2,4*	303±5,3*	368±2,8*	230±5,3*
Подвергнувшееся длительной гипотермии (2 ч при 20 °С)	488±6,6*	351±8,9*	444±5,5*	309±5,6*	363±4,9	242±3,2*

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. Ситановская

## 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; фенилметилсульфат — 0,3 мг/мл; нитротетра-