

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

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1989

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

1989

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 35

БЫПУСК 5

СЕНТЯБРЬ — ОКТЯБРЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1989

ВОПРОСЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. Б. СПИРИЧЕВ (зам. редактора), И. П. АШМАРИН, Т. Т. БЕРЕЗОВ, А. В. ВАСИЛЬЕВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, В. Л. КОЗЕЛЬЦЕВ (ответственный секретарь), А. Н. 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)
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)
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)

2. Болдырев А. А. Транспортные аденозинтрифосфатазы. — М., 1985. — С. 3—222.
3. Даниленко М. П. // Труды ин-та физиологии АН КирССР. Фрунзе. — 1982. — Т. 25. — С. 12—149.
4. Курский М. Д., Ромась И. И., Рыбальченко В. К. // Биохимия животных и человека. — М., 1977. — Т. 1. — С. 5—24.
5. Марков Х. М., Банкова В. В., Кучеренко А. Г. // Вестн. АМН СССР. — 1978. — № 7. — С. 84—90.
6. Постнов Ю. В. // Кардиология. — 1985. — № 10. — С. 63—71.
7. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. // Современные методы в биохимии. — М., 1977. — С. 63—68.
8. Bennett J. P. // Curr. Top. Membr. Transport. — 1980. — Vol. 14. — P. 127—164.
9. Buckalew V. M., Gruber K. A. // Ann. Rev. Physiol. — 1984. — Vol. 46. — P. 343—358.
10. Cirillo M., David-Dufilho M., Devynck M. A. // Clin. Sci. — 1984. — Vol. 67. — № 5. — P. 535—540.
11. Del Castello J. R., Marin R., Porverbio T., Proverbio F. // Biochem. biophys. Acta. — 1982. — Vol. 692, № 1. — P. 61—68.
12. Erdmann E., Schmidinger U. // Topics in Pathophysiology of Hypertension. — Boston, 1984. — P. 558.
13. Fujimoto Y., Tanioka H., Kashi L., Fujita T. // Biochem. J. — 1983. — Vol. 212. — P. 167—171.
14. Glynn J. M., Rink T. J. // Nature. — 1982. — Vol. 300. — P. 576—577.
15. Godfraind T., Noel F. // Arch. int. Pharmacodyn. — 1980. — Vol. 245, N 1. — P. 139—144.
16. Gudmundsson O., Andersson O., Hertz H. et al. // Cardiovasc. Pharmacol. — 1984. — Vol. 6, Suppl. 1. — P. S35—S41.
17. Jones A. W. // Circulat. Res. — 1974. — Vol. 35, N 5. — P. 117—122.
18. Karmazyn M., Tuana B. S., Dhallia N. S. // Canad. J. Physiol. Pharmacol. — 1981. — Vol. 59. — P. 1122—1127.
19. Levitsky O. O., Aliev M. K., Kuzmin A. V. // Biochim. biophys. Acta. — 1976. — Vol. 443. — P. 468—484.
20. Lichtstein D., Boone G., Blun A. J. // Life Sci. — 1979. — Vol. 25, N 11. — P. 985—992.
21. Limas C. J., Cohn J. N. // Circulat. Res. — 1974. — Vol. 35, N 4. — P. 601—607.
22. Luthra M. G., Kim H. D. // Biochim. biophys. Acta. — 1980. — Vol. 600, N 2. — P. 467—479.
23. Mesta-Ketela T., Vapaatalo H. // Prostaglandin and Tromboxanes. — Jena, 1981. — P. 129—130.
24. Mujais S. K., Chekai M. A., Jones W. J. // J. clin. Invest. — 1984. — Vol. 73, N 1. — P. 13—19.
25. Okabe E., Hiyama E., Oyama M. et al. // Pharmacology. — 1982. — Vol. 25. — P. 138—148.
26. Rayson B. M., Lonther S. O. // J. molec. cell. Cardiol. — 1981. — Vol. 13, Suppl. 2. — P. 6.
27. Tada M., Yamamoto T., Tonomura Y. // Physiol. Rev. — 1978. — Vol. 58, № 1. — P. 1—79.
18. Thandroyen F. T., Higginson L. M., Opie L. H. // Basic Res. Cardiol. — 1981. — Vol. 76. — P. 449—452.
29. Watari S., Nagata E., Ookubo T. // Jap. Circulat. J. — 1981. — Vol. 45. — P. 979.

Поступила 23.10.88

ACTIVITY OF ATPASES, CONTENT OF CYCLIC NUCLEOTIDES IN HEART TISSUE AND LIPID PEROXIDATION IN AORTA OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS

E. M. Vasil'eva, A. G. Zyabkina

Institute of Pediatrics, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

Activities of Na^+ , K^+ and Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPases as well as content of cAMP were increased in heart tissues of spontaneously hypertensive rats as compared with normotensive animals. On the other hand, the rate of lipid peroxidation was decreased in aorta of the hypertensive rats.

УДК 612.015.1].015.31].085.2

Г. К. Парсаданян, Л. В. Саркисян, И. Г. Асланян, Г. Т. Адунц,
Г. Г. Адунц

ВЛИЯНИЕ АЛЛОКСАНА IN VITRO НА АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ ФОСФОРНОГО ОБМЕНА

Институт биохимии АН Армянской ССР, Ереван

Аллоксан и стрептозототин используют при моделировании диабета в экспериментах на животных. Изучены вызываемые аллоксаном нарушения в некоторых звеньях углеводно-фосфорного обмена в тканях, происходящие вследствие перерождения β -клеток островков Лангерганса [1, 6, 12, 14]. Наряду с диабетогенным действием на ранних этапах после введения аллоксана могут отмечаться неспецифические

изменения отдельных звеньев метаболизма, что, по-видимому, связано с влиянием аллоксана на внутриклеточные механизмы окислительного обмена [5, 8, 13]. In vivo аллоксан восстанавливается в клетках в диалуровую кислоту, повторное окисление которой кислородом приводит к образованию таких цитотоксических свободных радикалов, как O_2^- или OH^\bullet [7, 10, 11]. Через 3 ч после введения аллокса-

Таблица 1

Действие аллоксана на активность ацетилфосфатазы тканей крыс (в нмоль ацетилфосфата на 1 мл в минуту)

Ткань	Контроль	Концентрация аллоксана, мкМ			
		10	100	1000	10 000
Тонкая кишка	390±9,24	110±4,22	370±4,95	390±9,24	410±6,8
<i>p</i>		<0,001	<0,01		
Почки	184±7,6	137±7,2	184±7,5	184±7,6	184±6,9
<i>p</i>		<0,01			
Печень	116±3,8	33±2,1	116±3,9	119±5,8	119±5,7
<i>p</i>		<0,05			
Мозг	208±11,5	112±1,1	167±6,4	222±2,7	236±11,9
<i>p</i>		<0,001	0,02		
Мышцы	119±0,9	66±1,4	61±0,8	77±4,2	112±3,5
<i>p</i>		<0,001	<0,001	<0,001	

на наблюдались нарушения в тиол-дисульфидных соотношений в ткани печени [13]. Быстрое нарушение жизнедеятельности клеток после введения аллоксана связано с пространственной перегруппировкой функционально важных химических группировок клеточных мембран [3].

Выяснение влияния аллоксана на активность отдельных ферментов позволило бы вычленить его прямое взаимодействие с этими ферментами из общего механизма его диабетогенного эффекта, связанного с подавлением секреторной функции инсулярного аппарата. Нами было изучено *in vitro* влияние аллоксана на активность ряда ферментов, осуществляющих гидроли-

тическое расщепление фосфорных эфиров, или фосфоролиз.

Методика

Были использованы гомогенаты тонкой кишки, почек, печени, мозга и мышц белых крыс (масса тела 100—120 г), а также очищенные препараты щелочной фосфатазы из кишок цыплят и кислой фосфатазы из свиной («Reanal», Венгрия). В качестве субстрата для щелочной и кислой фосфатаз применяли 2 мМ раствор натриевой соли п-нитрофенилфосфата («Serva», ФРГ) в мединаловом буфере (рН 9,6 или 4,6). Об активности ферментов судили по нарастающему количеству п-нитрофенола в течение 10 мин при 30 °С. Количество п-нитрофенола определяли фотометрически (ФЭК-56М) при 410 нм [2]. Активность ацетилфосфатазы [15] определяли при 25 °С в течение 10 мин. В качестве субстрата

Таблица 2

Действие аллоксана на активность фосфомоноэстераз тканей крыс (в нмоль п-нитрофенола на 1 мг ткани в минуту)

Фермент	Ткань	Контроль	Концентрация аллоксана, мкМ			
			10	100	1000	10 000
Щелочная фосфатаза	Тонкая кишка	13,0±0,3	13,4±0,3	12,5±0,5	10,5±0,5	6,0±0,5
	<i>p</i>					<0,001
	Почки	13,8±0,6	13,3±0,6	13,7±0,7	10,0±0,4	7,6±0,5
	<i>p</i>				<0,001	<0,001
	Печень	0,67±0,02	0,64±0,04	0,7±0,03	0,6±0,04	1,81±0,01
	<i>p</i>		>0,05			<0,001
Кислая фосфатаза	Мозг	1,33±0,06	2,1±0,07	2,1±0,05	2,1±0,06	1,8±0,03
	<i>p</i>		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Тонкая кишка	4,6±0,3	4,6±0,2	3,8±0,3	3,4±0,3	2,5±0,4
	<i>p</i>				<0,02	<0,001
	Почки	15,6±0,5	15,3±0,7	14,4±0,2	14,7±0,3	12,9±0,1
	<i>p</i>			=0,05		<0,001
	Печень	13,0±0,1	13,7±0,6	12,8±0,3	11,6±0,8	9,6±0,2
	<i>p</i>					<0,001
	Мозг	6,7±0,2	5,8±0,2	5,3±0,1	5,2±0,1	4,0±0,2
	<i>p</i>		<0,02	<0,001	<0,001	<0,001
	Мышцы	0,15±0,01	0,15±0,01	0,14±0,006	0,14±0,004	0,1±0,01
	<i>p</i>					<0,05

Действие гидрохинона, пирокатехина, витамина С на активность щелочной фосфатазы тканей крыс (в нмоль фосфата на 1 мг ткани в минуту)

Исследуемые соединения	Контроль	Почки	Тонкая кишка
Гидрохинон:			
100 мкМ	$4,85 \pm 0,25$	$9,38 \pm 0,18$	$4,29 \pm 0,18$
p	$2,72 \pm 0,035$	$<0,001$	$<0,001$
1000 мкМ		$9,77 \pm 0,17$	$5,16 \pm 0,07$
p		$<0,001$	$<0,001$
Пирокатехин:			
100 мкМ	$3,95 \pm 0,15$	$7,7 \pm 0,35$	$3,77 \pm 0,09$
p	$2,66 \pm 0,13$	$<0,001$	$<0,001$
1000 мкМ		$6,55 \pm 0,21$	$4,0 \pm 0,05$
p		$<0,001$	$<0,001$
Витамин С:			
100 мкМ	$4,6 \pm 0,9$	$4,9 \pm 0,15$	$3,1 \pm 0,35$
p	$2,66 \pm 0,12$	н. д.	$<0,05$
1000 мкМ		$6,3 \pm 0,2$	$5,8 \pm 0,035$
p		н. д.	$<0,001$

Примечание. н. д. — различие по сравнению с контролем статистически недостоверно; в графе «контроль»; в числителе данные для почек, в знаменателе — для тонкой кишки.

использовали 0,1 М раствор ацетилфосфата («Serva», ФРГ) в 0,1 М ацетатном буфере (рН 5,0). Об активности фермента судили по убыли ацетилфосфата. Конечные концентрации аллоксана составляли 10 и 100 мкМ, 1 и 10 мМ, а гидрохинона, пирокатехина, витамина С — 100 мкМ и 1 мМ. Приведены средние данные 5 опытов, которые обрабатывали статистически с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

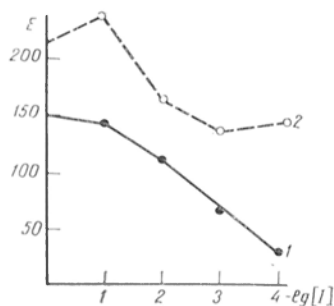
Данные о воздействии аллоксана на активность ацетилфосфатазы в тканях крыс приведены в табл. 1. Наиболее

чувствительной к аллоксану оказалась ацетилфосфатаза тонкой кишки и печени. Так, в присутствии 10 мкМ аллоксана в пробах активность фермента в указанных тканях снижалась более чем в 3 раза, а в тканях мозга — примерно в 2 раза. Наиболее резистентной к аллоксану оказалась ацетилфосфатаза почек. Данные о влиянии аллоксана на неспецифическую кислую и щелочную фосфатазы представлены в табл. 2 и 3.

Активность действующей в слабощелочном диапазоне рН фосфорпротеинфосфатазы кишок снижалась на 60 %, когда концентрация аллоксана в инкубационной смеси составляла 1 мМ (предварительные данные).

В опытах по прямому воздействию аллоксана на очищенные препараты кишечных фосфатаз (см. рисунок) подтвердилось непосредственное ингибирование кислой и в большей степени щелочной фосфатаз аллоксаном (100 мкМ — 10 мМ).

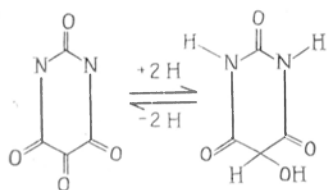
Механизм действия аллоксана связывают с переходами в системе аллоксан-диалуровая кислота и с образованием свободных гидроксильных радикалов [7, 10]. Редуцирующие вещества в клетке способствуют восстановлению аллоксана в диалуровую кислоту. Последняя в результате ауто-



Влияние аллоксана на активность очищенных препаратов щелочной фосфатазы из тонкой кишки цыплят и кислой фосфатазы из тонкой кишки свиней.

По оси абсцисс — lg концентрации аллоксана (мкМ). 1 — щелочная фосфатаза; 2 — кислая фосфатаза. По оси ординат — активность фосфатаз в Е (нмоль p-нитрофенола на 1 мг ферментного белка в минуту).

окисления может вновь превращаться в аллоксан с одновременным образованием радикала O_2^- [9].



Нами были исследованы некоторые восстановители, имеющие структурное сходство с диалуровой кислотой: пирокатахин, гидрохинон и аскорбиновая кислота, легко переходящие в соответствующие окисленные формы. В концентрации 100 мкМ — 1 мМ эти восстановители повышали активность щелочной фосфатазы в гомогенатах почек и кишок белых крыс (см. табл. 3). Подобных изменений не было обнаружено в опытах с гомогенатами тканей кур.

Эти данные согласуются с представлением о защитном действии антиоксидантов (первичные спирты, тиомочевина, диметилсульфоксид), препятствующем развитию аллоксанового диабета [7].

Результаты проведенного нами исследования подтверждают те немногочисленные сведения [4], свидетельствующие о возможности прямого воздействия аллоксана на активность ферментов в различных тканях животных помимо его влияния на β -клетки поджелудочной железы или образования комплексов с клеточными структурами [3].

ЛИТЕРАТУРА

1. Парсадзян Г. К., Тер-Татевосян Л. П., Мартикян А. Р. и др. // Биол. журн. Армении. — 1983. — Т. 36, № 6, — С. 519—521.
2. Шлыгин Г. К., Михлин С. Я. // Вопр. мед. химии. — 1955. — № 6. — С. 461—468.

3. Bilic N. // Diabetologia. — 1975. — Vol. 11. — P. 39—43.
4. Bilenski M. W., Keirns J. J., Wagner R. C. // Biochemistry and Physiology of Visual Pigments. — Berlin, 1973. — P. 335—339; 330—340.
5. Domke J., Weis W. // Biochem. biophys. Res. Commun. — 1983. — Vol. 114. — P. 578—583.
6. Gold A. H. // J. biol. Chem. — 1970. — Vol. 245. — P. 903—906.
7. Grankvist K., Marklund S., Sehlin I., Täljedal J. // Biochem. J. — 1979. — Vol. 182. — P. 17—25.
8. Hakan B. A., Eide S. J., Andersson A., Hellerstrom C. // Biochem. J. — 1979. — Vol. 182. — P. 797—802.
9. Heikkila R. E. // J. biol. Chem. — 1974. — Vol. 249. — P. 2447—2452.
10. Houée-Levin C., Gardes-Albert M., Pucheault J., Ferradini C. // Bull. europ. Physiopath. resp. — 1981. — Vol. 17, Suppl. — P. 43—48.
11. Houée-Levin C., Gardes-Albert M., Ferradini C., Pucheault J. // Biochem. biophys. Res. Commun. — 1979. — Vol. 91. — P. 1196—1200.
12. Komuniecki P. R., Kochan R. G., Sklenader K. K., Reimann E. N. // Molec. Cell. Biochem. — 1982. — Vol. 48. — P. 123—134.
13. Olinescu R., Nita S., Cheta D. M. // Rev. roum. Biochim. — 1975. — Vol. 12. — P. 181—186.
14. Rörth S., Wang P., Esmann V. // J. clin. Lab. — 1975. — Vol. 35. — P. 355—361.
15. Shiokawa H., Noga L. // J. biol. Chem. — 1970. — Vol. 245. — P. 669—673.

Поступила 22.02.88

EFFECT OF ALLOXAN ON ACTIVITY OF SOME ENZYMES OF PHOSPHATE METABOLISM IN VITRO

G. K. Parsadanyan, L. V. Sarkisyan, I. G. Aslanyan, G. T. Aduntz, G. G. Aduntz

Institute of Biochemistry, Academy of Sciences of the Armenian SSR, Yerevan

Effect of alloxan on activity of acetylphosphatase, alkaline and acid phosphatases, phenylpyrophosphatase was studied in vitro. Alloxan at concentrations 100 μ M—10 mM inhibited acid phosphatase and especially alkaline phosphatase. Reducing agents (pyrocatechol, hydroquinone, ascorbic acid), which are easily converted into corresponding oxidized forms, at concentrations 100 μ M—1.0 mM activated alkaline phosphatase in rat kidney and small intestine.