

УДК 577.352.4  
©Саакян, Саакян

## ТРАНСАМИНИРОВАНИЕ В МЕХАНИЗМЕ ЗАЩИТЫ МИТОХОНДРИЙ ОТ $\text{Ca}^{2+}$ ПЕРЕГРУЗКИ

*Г.Г. Саакян, И.Р. Саакян*

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пущино  
Московской обл., ул. Институтская 3; факс: (4967)33-05-53;  
эл. почта: saakyan@mail.ru

Выявлено реципрокное регуляторное действие субстратов трансаминирования (ТА), глутамата (ГЛУ) и  $\alpha$ -кетоглутарата (КГЛ), на сукцинатзависимое поглощение  $\text{Ca}^{2+}$  митохондриями тканей у разных животных. Действие этих субстратов зависит от концентрационного соотношения, в пределах (1 : 10 мМ): ГЛУ 1мМ увеличивает  $\text{Ca}^{2+}$ -ёмкость, КГЛ 10 мМ отменяет это увеличение, а 10 мМ ГЛУ устраняет блок, вызванный КГЛ. В настоящей работе рассматривается механизм контроля ТА динамики поглощения  $\text{Ca}^{2+}$  митохондриями, основанного на переключении ТА реакций и окисления от сукцината к КГЛ. Допускается, что включение ТА в работу ЦТК ответственно за обеспечение  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостаза и защиты митохондрий от  $\text{Ca}^{2+}$ -перегрузки.

**Ключевые слова:** митохондрии, трансаминирование,  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостаз.

**ВВЕДЕНИЕ.** Поглощение и освобождение кальция ( $\text{Ca}^{2+}$ ) митохондриями играет важную роль в регуляции фундаментальных для клетки функций, включая энергетический метаболизм, цитозольный  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостаз,  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнализацию [1-5].  $\text{Ca}^{2+}$  активирует многие ионные каналы и ферменты [2-5]. Активация  $\text{Ca}^{2+}$  мультиферментного комплекса  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназа (КГЛДГ) - аспартатаминотрансфераза (АсТА), обеспечивает высокую динамичность, взаимосогласованность и контроль за самообновлением и окислением субстратов цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) [5-9], синтезом и поставкой работы АТР, ГТР [5, 6, 9], а также реализацией восстановительных биосинтезов ГТР [10]. Чувствительность к  $\text{Ca}^{2+}$  особенно высока для пула  $\alpha$ -кетоглутарата (КГЛ), поставляемого через АсТА [6, 8].  $\text{Ca}^{2+}$  многократно увеличивает сродство КГЛДГ к собственному субстрату - выступает в роли ведущего регулятора фермента *in vivo* [5].

---

*Принятые сокращения:*  $\alpha$ -кетоглутарат - КГЛ, глутамат – ГЛУ, фосфоенолпируват – ФЕП, пируват – ПИР, оксалоацетат – ОАА, аминоксисацетат – АОА, цикл трикарбоновых кислот – ЦТК, трансаминирование – ТА, аспартаттрансаминаза – АсТА,  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназа - КГЛДГ, фоенолпируваткарбоксикиназа – ФЕПКК, пируваткиназа – ПК.

---

\* - адресат для переписки

Известно, что поглощение  $\text{Ca}^{2+}$  митохондриями является процессом не непрерывным, а дробным, “пульсным”. Очередная порция  $\text{Ca}^{2+}$  поглощается митохондриями лишь после выхода предыдущей [1]. Это указывает на существование естественного механизма контроля и защиты митохондрий от  $\text{Ca}^{2+}$ -перегрузки. Мы предположили о вероятном включении в такой регуляторный механизм феномена трансаминирования (ТА). Основанием считаем включение ТА в регуляцию работы ЦТК [11-14]. ТА чувствительно к изменению концентраций участвующих в нем субстратов, быстро меняет направление и, это сказывается на активности окисления субстратов ЦТК и динамику перемещения  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондрии [13]. В настоящей работе рассматривается вероятная роль ТА в механизме поддержания  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостаза в митохондриях.

**МЕТОДИКА.** В работе использовали интактные сердца собаки, кролика, крысы и голубя, из которых выделяли митохондрии. Использовали также сердце, печень, мозг крыс линии Вистар (массой 200–250 г) и печень мыши (массой 17-25 мг), из которых изготавливали солевые гомогенаты при соотношении ткань : среда 1 : 1 для печени [15], 1 : 3 для сердца и мозга [13]. Процедура по приготовлению, хранению и отбору тканевых гомогенатов подробно описана ранее [13, 15]. В отдельной серии экспериментов исследовали дыхание митохондрий сердца при перевязке в течение двух суток нисходящей ветви левой коронарной артерии у кроликов [16, 17].

Митохондрии из сердечной мышцы выделяли стандартным методом дифференциального центрифугирования (1500 и 12000 g по 10 минут), используя для этого среду сахарозы 300 мМ, Hepes 10 мМ, ЭДТА 0,5 мМ, pH 7,4 при соотношении ткань: среда равной 1 : 10. Среду суспендирования (без ЭДТА), pH 7,4, использовали в соотношении ткань: среда равной 1 : 10. Осадок митохондрий не промывали.

*Измерение фосфорилирующего окисления* проводили с помощью платинового электрода полярографическим методом [15].

*Измерение окислительно-восстановительного превращения NAD* проводили флуорометрическим методом (366-450 нм) [18].

*Измерение поглощения  $\text{Ca}^{2+}$  митохондриями* проводили по противофазному изменению  $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$  обмена с помощью водородного электрода.  $\text{CaCl}_2$  добавляли порциями до спонтанного выброса из митохондрий [13, 15]. Сумма поглощенных катионов характеризует  $\text{Ca}^{2+}$ -ёмкость. Нами показано, что поглощение  $\text{Ca}^{2+}$  гомогенатами тканей полностью предотвращается ингибитором митохондриальных процессов, рутеиновым красным - специфическим ингибитором транспорта  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриях, малонатом и арсенитом [15]. Это указывает, что поглощение  $\text{Ca}^{2+}$  протекает именно в матриксе митохондрий, а не в других внутриклеточных структурах.

В качестве субстрата окисления использовали сукцинат и глутамат (ГЛУ) в различной комбинации с КГЛ, фосфоенолпируватом (ФЕП), аминоксиацетатом – ингибитором ТА, и малонатом – ингибитором активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ).

Состав сред инкубации для выделенных митохондрий и гомогенатов тканей, а также концентрации добавленных субстратов окисления указаны в подписях к рисункам. Измерения проводили в течение не более 30-45 мин с момента получения препаратов при 23°C.

*Белок измеряли* методом Лоури. Результаты обрабатывали по t-критерию Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ.

*Ограничивающее дыхание действие  $\alpha$ -кетоглутарата при окислении сукцината.* Мы обратили внимание, что скорость окисления сукцината, добавленного после реализации окислительного фосфорилирования на КГЛ, ПИР или ГЛУ, различается (рис. 1, [13]). Хотя активация дыхания на внесение сукцината (4 мМ) происходит, скорость его ниже, чем при моноокислении субстрата,

а энергетический контроль выше. Видно, что скорость дыхания на сукцинате замедляется в ряду ГЛЮ, ПИР, КГЛ: в состоянии покоя на 6, 12 и 41%, в состоянии активности на 7, 16 и 37%, соответственно. При этом увеличение показателей ADP/O (+64%) и дыхательного контроля - ДК (+26%) достоверно ( $p=0,01$ ) только для случая с КГЛ.

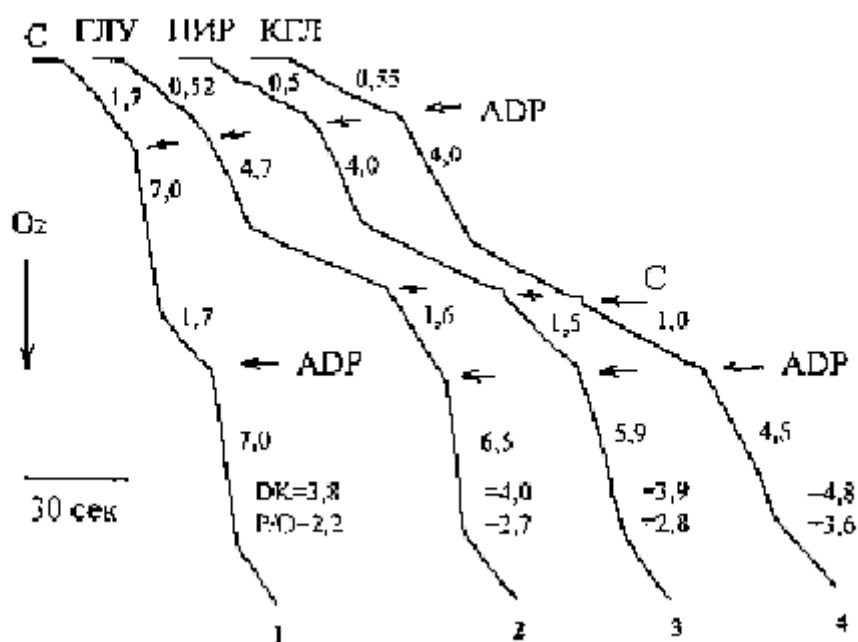


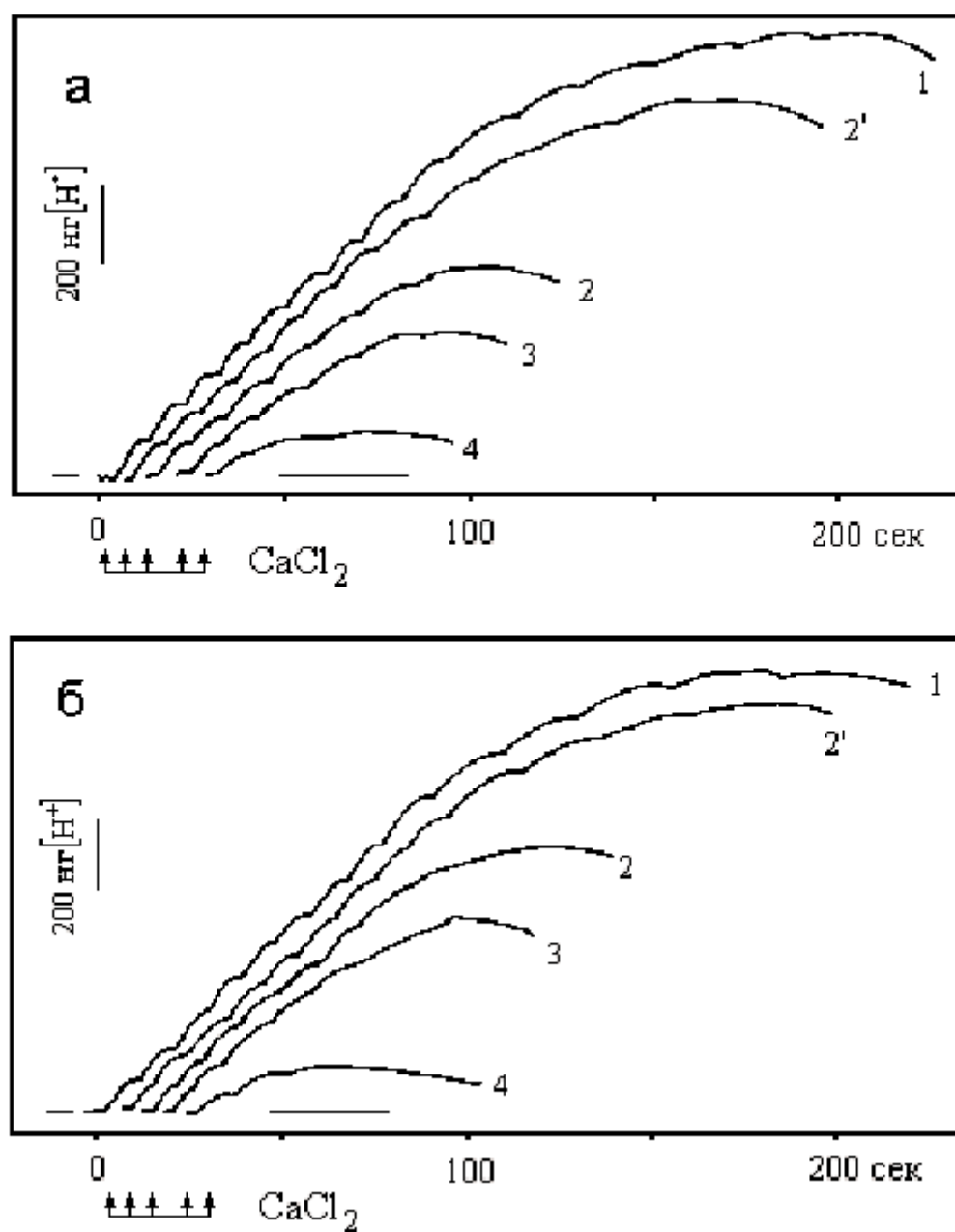
Рисунок 1.

Ограничение  $\alpha$ -кетоглутаратом дыхания на сукцинате в митохондриях сердца собаки. Сравнение действия  $\alpha$ -кетоглутарата с глутаматом и пируватом.

Среда инкубации общим объемом в 1 мл содержит: сахарозы 250 мМ, KCl 60 мМ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,5 мМ, трис-буфер 1,5 мМ, pH 7,4. Скорости дыхания при добавлении сукцината 4 мМ (1), ГЛЮ 6 мМ (2), ПИР 6 мМ (3) и КГЛ 6 мМ (4). В пробах 2, 3 и 4 между последовательными добавками АДФ 200 мкМ добавлен сукцинат 4 мМ. Субстраты добавлены до внесения в среду (по 1,35 мг) митохондрий. Скорости дыхания в нг-ат. О/сек на 1 мг белка митохондрий;  $n=11$ .

Показано, что ограничивающее влияние КГЛ на окисление сукцината сопоставимо с таковым для ОАА в концентрации 2-3 мМ. В превышающих (6-9 мМ) концентрациях ОАА приводит к ингибированию фосфорилирующего окисления. В дальнейшем исследовании с целью работы с физиологическими концентрациями ОАА использовали его природный источник - ФЕП.

Реципрокность влияния  $\alpha$ -кетоглутарата и глутамата на поддерживаемое окислением сукцината поглощение  $\text{Ca}^{2+}$ . Сходство во влиянии на поглощение  $\text{Ca}^{2+}$   $\alpha$ -кетоглутарата и фосфоенолпирувата. Применение оригинального приема - изменения в диапазоне 1 : 10 мМ концентрационного соотношения ГЛЮ и КГЛ, - позволило выявить высокую чувствительность к этому изменению показателя сукцинатзависимого поглощения  $\text{Ca}^{2+}$  митохондриями тканей (рис. 2, таблица, [13]). Из данных рисунка 2а видно, что при концентрационном преобладании (10 : 1) КГЛ над ГЛЮ накопление  $\text{Ca}^{2+}$  уменьшается (-46%) и вдвое сокращается продолжительность удержания катиона.  $\text{Ca}^{2+}$ -ёмкость под влиянием аминоксисацетата дополнительно уменьшается на 13%, малонатом - еще на 25%.



**Рисунок 2.**

Реципрокность действия глутамата и  $\alpha$ -кетоглутарата на поддерживаемое окислением сукцината поглощение  $\text{Ca}^{2+}$  в гомогенатах печени у крыс. Устранение  $\alpha$ -кетоглутаратом и фосфоенолпируватом активации глутаматом поглощения  $\text{Ca}^{2+}$ . Угнетение процесса аминоксидацией и малонатом.

Среда инкубации общим объемом в 2 мл содержит:  $\text{KCl}$  125 мМ,  $\text{Hepes}$  1 мМ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 мМ, pH 7,4.  $\text{Ca}^{2+}$ -емкость при добавлении: а) сукцината 4 мМ и ГЛУ 1 мМ (1), сукцината, ГЛУ и КГЛ 10 мМ (2), сукцината, ГЛУ, КГЛ и АОА 1 мМ (3), сукцината, ГЛУ, КГЛ, АОА и малоната 2 мМ (4); б) сукцината 4 мМ и ГЛУ 1 мМ (1), сукцината, ГЛУ 1 мМ и ФЕП 1 мМ (2), тоже с ГЛУ 10 мМ (2'), сукцината, ГЛУ, ФЕП и АОА 1 мМ (3), сукцината, ГЛУ, ФЕП, АОА и малоната 2 мМ (4). Субстраты добавлены до внесения в среду 7–8 мг белка гомогената (примерно = 1,5 мг белка митохондрий). Везде  $\text{CaCl}_2$  добавлен по 100 нмоль.

Таблица. Ограничение  $\alpha$ -кетоглутаратом активации глутаматом сукцинатзависимого накопления  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриях и гомогенатах сердца, печени и мозга у животных.

Препарат	$\text{Ca}^{2+}$ -ёмкость, нмоль $\text{H}^+$ на мг белка. Прирост ёмкости %.		
	Субстрат окисления мМ:		
	1. С 2,5	2.С+ ГЛУ1	3.С+ГЛУ1+КГЛ10
Митохондрии сердца голубя, (n = 10)	51,4 ± 5	137 ± 9* 100%	42 ± 3** - 67%
Митохондрии сердца собаки, (n = 11)	108 ± 7	241 ± 9* 100%	99 ± 3** - 59%
Гомогенат сердца крысы, (n = 10)	251 ± 8	538 ± 11* 100%	323 ± 11** - 40%
Гомогенат печени крысы, (n = 17)	211 ± 12	417±20* 100%	224 ± 17** - 46%
Гомогенат мозга крысы, (n = 5)	-	163 ± 12 100%	82 ± 9** - 50%
Гомогенат печени мыши, (n = 5)	340 ± 12	455±25* 100%	224 ± 11** - 49%

Примечание. % Соотнесен к  $\text{Ca}^{2+}$ -ёмкости на сукцинате и глутамате - (С+ГЛУ).

\*p=0,01 к  $\text{Ca}^{2+}$ -ёмкости на сукцинате; \*\*p=0,01 к  $\text{Ca}^{2+}$ -ёмкости на сукцинате и глутамате.

Фосфоенолпируват 1 мМ (рис. 2б) уменьшает (-42%) стимулированное ГЛУ сукцинатзависимое поглощение  $\text{Ca}^{2+}$  и сокращает время удержания катиона митохондриями в той же мере, что и 10 мМ КГЛ. Действие ФЕП углубляется аминооксиацетатом (-13%), малонатом (-35%) и подавляется полностью арсенитом (данные не приводятся). Ограничивающее действие КГЛ и ФЕП на сукцинатзависимое поглощение  $\text{Ca}^{2+}$  обращается 10 мМ ГЛУ. Выявлено, что ФЕП углубляет подавление  $\text{Ca}^{2+}$ -ёмкости на КГЛ (данные не приводятся).

Влияние  $\alpha$ -кетоглутарата, фосфоенолпирувата и пирувата на флуоресценцию поддерживаемого окислением сукцината NADH. Добавление КГЛ, ФЕП и ПИР к митохондриям сердца и печени кролика выявило их следующие эффекты на поддерживаемый окислением сукцината уровень NADH (рис. 3). Из данных рисунка 3а видно, что в сердце КГЛ и ФЕП, но не ПИР, ограничивают высокий уровень NADH на сукцинате. В печени (рис. 3б) ограничение NADH инициируется КГЛ и ПИР, но не ФЕП. Для реализации с ФЕП подобного эффекта в среду вносится ADP и пируваткиназа, без этого он не проявляется.

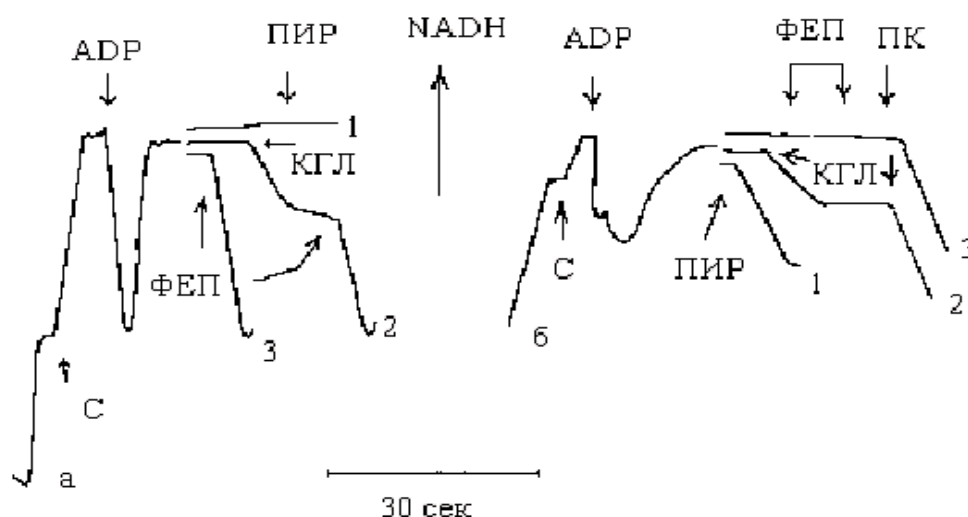


Рисунок 3.

Влияние  $\alpha$ -кетоглутарата, фосфоенолпирувата и пирувата на поддерживаемый сукцинатом уровень NADH в митохондриях сердца (а) и печени (б) у кролика. Условия инкубации те же, что на рисунке 1.

Последовательно вслед за обратимым восстановлением NAD на воздействие ADP 200 мкМ в присутствии сукцината 4 мМ, добавлены: а) КГЛ 10 мМ, пируват 10 мМ и ФЕП 1 мМ; б) КГЛ 10 мМ, ФЕП 1 мМ и пируваткиназа (ПК) 1 мкМ (1), ФЕП и ПК (2), пируват 24 мМ (3).

*Ограничение  $\alpha$ -кетоглутаратом гиперактивации окисления сукцината и усиление энергетического сопряжения дыхания митохондрий сердца в условиях его патологии у кроликов.* На рисунке 4 сравниваются кривые дыхания митохондрий сердца у животных инфарктом миокарда с контролем. Выявлено, что у опытных животных КГЛ уменьшает гиперактивацию окисления сукцината, одновременно усиливает сопряжение дыхания с накоплением энергии: ADP/O увеличивается до 3 против 1,9 ( $p=0,01$ ) при моноокислении сукцината, в контроле ADP/O = 2,6.

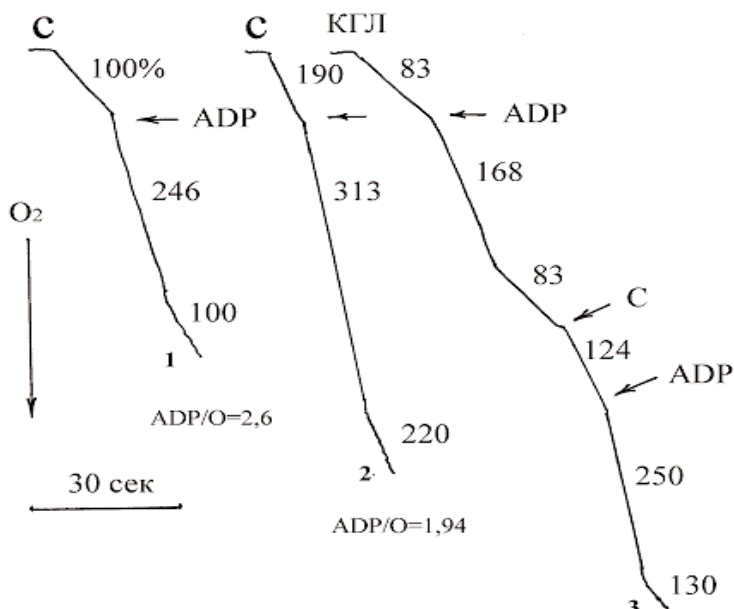


Рисунок 4.

Сопрягающее действие  $\alpha$ -кетоглутарата на дыхание митохондрий сердца при инфаркте миокарда у кроликов. Митохондрии из сердца кроликов: intactных – 1, опытных – 2 и 3. Условия инкубации те же, что на рисунке 1. Дыхание при добавлении сукцината 4 мМ (1 и 2), КГЛ 6 мМ и (между последовательными добавками ADP) сукцината 4 мМ (3). Везде скорости дыхания в % соотношены к скорости дыхания покоя на сукцинате в контроле = 1,9 нг-ат. О/сек на 1 мг белка;  $n=7$ .



**ОБСУЖДЕНИЕ.** Полученные результаты (рис. 1 и 2, таблица) свидетельствуют о реализации активации или торможения сукцинатзависимого поглощения  $\text{Ca}^{2+}$  митохондриями тканей у разных животных, что зависит от изменения концентрационного соотношения, в пределах 1-10 мМ, субстратов ТА, ГЛЮ и КГЛ. Показано, что поглощение  $\text{Ca}^{2+}$  активируется 1мМ ГЛЮ и блокируется высокими (10 мМ) концентрациями КГЛ, с другой стороны, этот блок отменяется 10 мМ ГЛЮ. Эти данные указывают на вероятную связь между реализацией обратимых превращений субстратов ТА, КГЛ и ГЛЮ, притоком ОАА, его влиянием на окисление сукцината, соответственно, динамику  $\text{Ca}^{2+}$ -токов.

ГЛЮ активирует окисление сукцината и обеспечивает значительное повышение  $\text{Ca}^{2+}$ -ёмкости, а также стабильность удержания  $\text{Ca}^{2+}$  митохондриями (рис. 2а, [13, 15]).

Действие КГЛ на окисление сукцината противоположно таковому ГЛЮ. Оно выражается в притормаживании поддерживаемых окислением сукцината скоростей дыхания покоя и активности (рис. 1), скорости разобщённого 2,4-динитрофенолом дыхания [13], уменьшении уровня NADH (рис. 3, [13, 17]),  $\text{Ca}^{2+}$ -ёмкости (-46%), а также сокращении времени удержания катиона митохондриями (рис. 2а, таблица). Обнаружено (рис. 1, [17]), что при ограничении (- 41%) КГЛ дыхания на сукцинате, параметры энергетического контроля остаются повышенными. ADP/O увеличивается от 2,2 до 3,4 ( $p=0,01$ ) – величины, типичной для моноокисления КГЛ. Это указывает на повышение вклада КГЛ в дыхание.

Примечательно, что действие 10 мМ КГЛ сопоставимо с таковым для 1 мМ ФЕП и, в обоих случаях, легко отменяется (рис. 2) 10 мМ ГЛЮ, с другой стороны, углубляется аминоксисукцинатом - ингибитором трансаминаз, малонатом, арсенитом (данные не приводятся). Влияние аминоксисукцината проявляется в диапазоне от 1 мМ до 10 мМ ГЛЮ [13].

Выявленное нами сходство во влиянии КГЛ и ФЕП на исследуемые нами сукцинатзависимые процессы в митохондриях тканей (рис. 1, 2 и 3) указывает на общность механизма действия двух этих метаболитов - поставщиков ОАА и GTP. Притормаживание КГЛ и ФЕП окисления сукцината, по-видимому, инициируется ОАА и усиливается GTP, синтезированной в субстратном фосфорилировании. Это подтверждается эффектами подавления GDP дыхания на сукцинате [18], провокацией выброса  $\text{Ca}^{2+}$  из митохондрий GTP, GDP [19, 20], ОАА [21], ФЕП, его солей [22], но не другими гликолитическими субстратами.

Следует полагать, что в присутствии избыточных концентраций КГЛ пул ОАА увеличивается в силу его притока и ограничения траты. КГЛ ингибирует активность, связанных с метаболизмом ОАА, ферментов (фосфоенолпируваткарбоксикиназы – ФЕПКС [23-25], АсТА [7], глутаматдегидрогеназы, изоцитратдегидрогеназы - ИЦДГ), блокирует выход аспартата и КГЛ из митохондрий [7]. К примеру [23], 10 мМ КГЛ в конкуренции за ОАА на 38-43% ингибирует активность ФЕПКС, тем самым, экспорт, включение ОАА в пируватный (ОАА-ФЕП-ПИР-ОАА) цикл. Действие КГЛ углубляется в присутствии ОАА, GTP, Mn или наличии GTP-синтезирующей системы, в тоже время, с завершением окисления КГЛ, нивелируется. Заметим, активность ФЕПКС не подвергается влиянию других метаболитов ЦТК, ТА или гликолиза, оно для КГЛ - избирательное [22, 23, 25].

Традиционно ОАА воспринимается как сильный природный ингибитор СДГ. Известно ингибирование ОАА активности КГЛДГ, ИЦДГ [5]. Оно воспроизводится физиологическими концентрациями ОАА, и предполагается, что может реализоваться *in vivo* [14]. Установлено, что метаболит встроен в структуру КГЛДГ комплекса, легко взаимодействует с E1 компонентом, ингибирует активность и приводит к утрате восприятия сигнала и срочности ответа на изменение концентрации ОАА [14].

Результаты собственных наблюдений и данных литературы позволяют ТА утвердить в роли *переключателя* [12-15] путей синтеза и последующей реализации резерва (микрофонда) накопленных в ЦТК субстратов. При доминировании в окислении сукцината, ОАА притормаживает активность КГЛДГ - нарастает приток КГЛ. И наоборот, при доминировании в окислении КГЛ, ОАА притормаживает активность СДГ - нарастает приток сукцината (подобно ситуации наполнения камер сердца кровью при закрытом клапане).

Мы допускаем, что контролируемая ТА цикличность процессов накопления фонда эндогенных субстратов, сопряженная с попеременным усилением сигнального действия и окисления метаболитов - основа механизма, путем которого, по-видимому, в быстро меняющейся метаболической обстановке осуществляется координация направления  $\text{Ca}^{2+}$ -токов, поддерживается энергетический и  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостаз в митохондриях тканей.

Имеются сведения о реализации ТА смены генерации возбуждающих и тормозных нейротрансмиттеров у млекопитающих [14], метаболических маршрутов (от аэробного дыхания к анаэробному росту) у микроорганизмов [14, 26], балансирования между входом - выходом углерода из ЦТК и реализации биосинтезов [27], смены симпатических-парасимпатических влияний на уровне митохондрий [11-13, 26].

Активация ГЛУ окисления сукцината обеспечивает АТР транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  и опосредованные данным катионом интенсивные функции (сокращение, секрецию гормонов,  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнализацию [1-5, 9, 14]). Притормаживание КГЛ (рис. 1 и 4), ФЕП/ОАА (рис. 2 и 3) окисления сукцината предполагает защиту от хронической активации  $\text{Ca}^{2+}$ -регулируемых дегидрогеназ, перегрузки  $\text{Ca}^{2+}$ -выводящих каналов, избыточного образования свободных радикалов с последующей дисфункцией митохондрий.

Ограничение КГЛ гиперактивации окисления сукцината в экстремальных условиях (рис. 4) приводит не только к повреждению митохондрий, но является необходимой защитной мерой, обеспечивает развитие восстановительных процессов за счет метаболизма КГЛ и активации GTP-зависимых биосинтезов [10, 16]. Показано, что корректирующие метаболизм эффекты КГЛ сопряжены с восстановлением физиологических функций и повышением выживаемости животных [16]. Активация КГЛ биосинтезов приводит к ускорению заживления травматических (хирургических, ожоговых) повреждений тканей у пациентов [27]. Метаболиты ЦТК, ТА и анаплеротических реакций успешно используются в целях предотвращения постишемических - реперфузионных повреждений органов [2, 4-6, 9, 28, 29].

Таким образом, феномен реципрокной регуляции ГЛУ и КГЛ сукцинатзависимого поглощения  $\text{Ca}^{2+}$ , основанной на интегральном взаимодействии между трансаминазными реакциями, работой ЦТК, пируватным циклом и электротранспортной системой митохондрий, естественно, включает защитную функцию. Включение ТА в метаболический контроль ЦТК, по-видимому, ответственно за переключение  $\text{Ca}^{2+}$ -токов в митохондриях по пути заданному энергетическими и сигнальными запросами клеток, обеспечение энергетического и  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостаза.

Рассматриваемый нами феномен, по сути, соответствует общему, едва ли не самому универсальному, принципу реципрокной регуляции метаболизма и физиологических функций [11-14, 26], может иметь важное физиологическое – клиническое значение, использоваться для регуляции  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостаза,  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнализации, формирования  $\text{Ca}^{2+}$ -ответов в митохондриях, а также разработки и выбора модуляторов  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов [29].



## ЛИТЕРАТУРА

1. Lee C.H., Kuo K-H., Dai J., Breemen C. (2005) *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **83**, 733-741.
2. Beutner G., Sharma V.K., Lin L., Ryu S-Y., Dirksen R.T. (2005) *Biochim. Biophys. Acta*, **1717**, 1-10.
3. Brookes P.S., Yoon Y., Robotham J.L., Anders M.W., Sheu S. (2004) *Am. J. Physiol.*, **287**, C817-C833.
4. Gutierrez J., Ballinger S.W., Darley-Usmar V.M., Landar A. (2006) *Circ. Res.*, **99**, 924-932.
5. Cortassa S., Aon M.A., Marban E., Winslow R.L., O'Rourke B. (2003) *Biophys. J.*, **84**, 2734-2755.
6. Smith B.C., Clotfelter L.A., Cheung J.Y., LaNoue K.F. (1992) *Biochem. J.*, **284**, 819-826.
7. Schoolwerth A.C., LaNoue K.F., Hoover W.J. (1983) *J. Biol. Chem.*, **258**, 1735-1739.
8. Strzelecki T., Strzelecka D., Koch C.D., LaNoue K.F. (1988) *Arch. Biochem. Biophys.*, **264**(2), 310-320.
9. O'Donnell J.M., Doumen Ch., LaNoue K.F., et al. (1998) *Am. J. Physiol.*, **274**, H467-H476.
10. Шостаковская И.В., Долиба Н.М., Гордий С.К., Бабский А.М. (1989) *Укр. биохим. журн.*, **58**, 54-61.
11. Кондрашова М.Н. (1991) *Биохимия*, **56**, 388-404.
12. Кондрашова М.Н., Федотчева Н., Саакян И., Сирота Т.В., Захарченко М.В. (2003) *Горизонты биофизики*, Пушино, с. 147-154.
13. Саакян И.Р., Саакян Г.Г. (2006) *Биомед. химия*, **53**, 287-297.
14. Frank R.A.W., Price A.J., Northrop F. D., Perham R.N., Luisi B.F. (2007) *J. Mol. Biol.*, **368**, 639-651.
15. Саакян И.Р., Саакян С.Г., Кондрашова М.Н. (2001) *Биохимия*, **66**, 976-984.
16. Саакян И.Р., Карапетян Т.Д., Саакян Г.Г. (2001) *Вопр. мед. химии*, **47**(2), 217-226.
17. Саакян И.Р. (1980) *Доклады НАН Армении*, **80**(2), 110-116.
18. Akhmerov R.N. (1986) *FEBS Lett.* **198**(2), 251-255.
19. Alvarez J., Montero M., Garsia-Sancho J. (1999) *News Physiol. Sci.*, **14**, 161-168.
20. Денисенко В.Ю., Кузьмина Т.И. (2005) *Цитология*, **47**(8), 709-712.
21. Beatrice M.C., Stiers D.L., Pfeiffer D.R. (1982) *J. Biol. Chem.*, **257**(12), 7161-7171.
22. Chudapongse P., Haugaard N. (1973) *Biochim. Biophys. Acta*, **307**, 599-606.
23. Titheradge M.A., Picking R.A., Haynes, R.C. (1992) *Biochem. J.*, **285**, 767-771.
24. Burgess S.C., Hausler N., Merritt M., Jeffrey F.M.H., Storey Ch., Milde A., Koshy, S., Lindner J., Magnuson M.A., Malloy C.R., Sherry A.D. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**(19), 48941-48949.
25. Fukuda W., Fukui T., Atomi H., Imanaka T. (2004) *J. Bacteriology*, **186**, 4620-4627.
26. Ильченко А.П., Огорельишев Д.И., Шишканова Н.В., Соколов А.П., Финогенова Т.В., Кондрашова М.Н. (2005) *Микробиология*, **74**, 609-615.
27. Jeevandam M., Petersen S.R. (1999) *Clin. Nutrition*, **18**, 209-217.
28. Panchal A.R., Comte B., Huang H., Kerwin T., et al. (2000) *Am. J. Physiol.*, **279**, H2390-2398.
29. Matsunaga M., Saotome M., Satoh H., Katoh H., Terada H., Hayashi H. (2005) *Circ. J.* **69**, 1132-1140.

Поступила: 25. 10. 2007.

TRANSAMINATION IN THE MECHANISM OF PROTECTION OF MITOCHONDRIA  
FROM  $\text{Ca}^{2+}$  OVERLOAD

*H.G. Sahakyan, I.R. Saakyan*

Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino,  
Moscow region, 142290 Russia; e-mail: saakyan@mail.ru

A high sensitivity of the succinate-dependent uptake of  $\text{Ca}^{2+}$  by mitochondria to (1) the transamination (TA) substrates glutamate (GLU) and  $\alpha$ -ketoglutarate (KGL) and (2) the inhibitor of TA aminooxyacetate (AOA) was revealed. The effect of the TA substrates on  $\text{Ca}^{2+}$  uptake depends on the ratio (1 : 10 mM) of their concentrations: 1 mM GLU activates and 10 mM KGL decreases this activation by 35-46%, whereas AOA suppresses the  $\text{Ca}^{2+}$  capacity by 60% and the inhibitor of succinate oxidation malonate, by 80-90%. A similarity in the limiting action of KGL and phosphoenolpyruvate (PEP), two sources of oxaloacetate (OAA) and GTP, on  $\text{Ca}^{2+}$  capacity was revealed. The differences in the effects of KGL and GLU and the similarity in the effects of KGL and PEP on succinate oxidation are explained by the effect of OAA and GTP on this oxidation. The alternating inflow of OAA in coupled processes of TA, pyruvate cycle, and tricarboxylic acids cycle provides the reciprocal activation and cyclic recurrence of  $\text{Ca}^{2+}$  uptake, i. e., protection from the chronic exhausting activation of  $\text{Ca}^{2+}$ -regulated dehydrogenases, the overload of  $\text{Ca}^{2+}$ -outgoing channels, and the excessive production of free radicals in mitochondria. The reciprocal regulation of  $\text{Ca}^{2+}$  uptake by TA is considered as a mechanism of the maintenance of  $\text{Ca}^{2+}$  homeostasis and protection of mitochondria against  $\text{Ca}^{2+}$  overload.

**Key words:** mitochondria, calcium, transamination, homeostasis.