

УДК 577.15.072+577.152+591.169.2+612.015.12+612.173.1

И. Е. САДОКОВА, С. С. ОГАНЕСЯН

АТФ-АЗНАЯ АКТИВНОСТЬ МИОЗИНА СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ КРОЛИКОВ ПОСЛЕ ДИФТЕРИЙНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ПРЕПАРАТОВ

Экспериментальный миокардит у кроликов приводит к разрушению миофибрилл мышцы сердца. Введением препаратов можно в некоторой степени восстановить нарушенную сократительную функцию сердца и ускорить развитие компенсаторных процессов [2].

Задачей настоящего исследования было изучение активности миозиновой АТФ-азы сердца, которая, возможно, подвергаясь действию дифтерийного токсина, вызывает нарушение сократительной функции сердца. В литературе нам не удалось обнаружить исследований АТФ-азной активности миозина мышцы сердца при дифтерийном миокардите, а данные по удельной АТФ-азной активности миозина мышцы сердца при других патологиях разноречивы [7, 11, 13, 14, 15].

В отличие от удельной активности наиболее объективной характеристикой фермента является константа Михаэлиса (K_m), представляющая собой количественное выражение «сродства» фермента к субстрату. На величину K_m не влияет степень чистоты выделенного препарата миозина, и единственным необходимым требованием является отсутствие примеси актина к миозину. Поскольку с субстратом (АТФ) взаимодействует лишь часть молекулы фермента, т. е. его активный центр, K_m миозина, выделенного из сердца в условиях патологии, даст информацию о состоянии активного центра миозина в этих условиях.

K_m миозина мышцы сердца кроликов при дифтерийном миокардите определяли через 14 дней после введения токсина, в период острой функциональной недостаточности миокарда. Экспериментальный миокардит воспроизводили у кроликов породы «Шиншилла» весом около 3 кг введением токсина в разведении 1:1000 по 0,32 мл на кг веса животного. Группе животных на 5-й день после введения токсина начинали инъекции комплекса препаратов: гидролизата миокарда, препарата селезенки и резерпина. Первые два — тканевые препараты [5]. Резерпин использован с целью понижения содержания серотонина в миокарде, увеличенного вдвое после введения дифтерийного токсина [3].

Для получения одного препарата использовали сердца 3—4 животных. Миозин выделяли по методу Katz [8]. Экстракцию проводили не более 15 мин. раствором следующего состава: KCl 0,3 М; К-фосфатный буфер 0,15 М, pH 6,8; 0,02 М ЭДТА; 0,005 М Mg Cl₂ и 0,5 мг/мл нейтрализованной динатриевой соли АТФ [12]. Во все растворы в процессе выделения добавляли унитиол до конечной концентрации 10⁻⁴ М. Относительную вязкость миозина, как показатель примеси актина, с АТФ (0,6 мг/мл) и без нее определяли на вискозиметре Оствальда при комнатной температуре. Концентрацию миозина определяли модифицированным методом Лоури [1]. При этом концентрация KCl должна быть не более 0,06 М.

Условия кинетического анализа АТФ-азной активности миозина были следующие (указаны конечные концентрации): миозин (0,5 мг/мл) инкубировали при 25° от 30 до 45 сек. при pH 7,8 с трис-HCl (0,05 М), KCl (0,25—0,33 М в разных опытах), CaCl₂ (5·10⁻² М) и АТФ (2—7·10⁻⁴ М). Реакцию останавливали добавлением ТХУ с ко-

ичной концентрацией 2,5%. Неорганический фосфор определяли по методу Lowry [10]. Субстрат (АТФ) растворяли в трис-HCl pH 7,8 и доводили до pH 7,8 1 н. NaOH на pH-метре. Точное содержание АТФ в растворе определяли после хроматографии на пластинках с ДЭАЭ-целлюлозой, последующей элюции пятна 0,1 н. HCl и расчета по коэффициенту молярной экстинкции (E_{257} при pH 2). K_m и максимальную скорость реакции ($V_{\max}$) определяли графически, преобразуя уравнение Михаэлиса-Ментен в координатах $[s]$ и $[s]/v$ и используя метод наименьших квадратов для расчета теоретических графиков [4]. Относительная вязкость препаратов миозина разных серий опыта не менялась после добавления АТФ, что свидетельствовало об отсутствии примеси актина.

Таблица 1

Величины K_m и $V_{\max}$ миозина мышцы сердца кроликов (среднее $\pm$ ошибка среднего квадратического отклонения)

Сердца кроликов в опытах	Количество опытов	$K_m \cdot 10^{-5} M$	$V_{\max} \cdot 10^{-8} M_{\text{миоин}}^{-1} \text{мг}^{-1}$
Интактные	3	$7,0 \pm 0,48$	$36,0 \pm 2,3$
С дифтерийным миокардитом	2	7,3	35,4
С введением ток-сина и препаратов	3	$6,6 \pm 0,97$	$42,1 \pm 3,2$

Установлено, что K_m и $V_{\max}$ миозина не меняются после введения токсина и препаратов в сравнении с показателями миозина интактных животных (табл. 1). Следовательно, при двухнедельном экспериментальном дифтерийном миокардите структура активного центра миозина не изменяется. Не исключено, что при этом может быть изменена другая часть молекулы миозина либо нарушены другие звенья сократительной системы.

Поскольку полупериод обновления миозина сердечной мышцы составляет 7,6 дня [9], в наших опытах выделяли миозин, почти заново синтезированный в условиях патологии. Литературные данные электронной микроскопии о разрушающем действии некоторых патологических факторов, прежде всего на актин [6], дают основание предположить, что неразрушившийся миозин мог быть препаративно выделен. В данном эксперименте процент выделяемого миозина по отношению к сырому весу ткани был постоянен во всех сериях опыта (в среднем 0,1%). Вполне вероятно допущение, что нарушение сократительной функции сердца при дифтерийном миокардите связано с уменьшением количества функционально полноценного актомиозина.

Ин-т биологии развития АН СССР,

Ин-т кардиологии МЗ Арм. ССР, г. Ереван

Поступило 26/XI 1974 г.

Ի. Բ. ՅԱԴՈՎԱԴԱՆ, Ս. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

ՀԱԳԱՐՆԵՐԻ ՍՐՏԱՄՎԱՆԻ ՄԻՈԶԻՆԻ ԱՏՖԱԳԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ
ԴԻՖՏԵՐԻԱՅԻՆ ՎՆԱՍՈՒՄԻՑ ՀԵՏՈ ԵՎ ՄԻ ՔԱՆԻ ԴԵՎԱՄԻՋՈՑՆԵՐԻ
ՕԳՏԱԳՈՐԾՈՒՄԸ

Ա մ փ ն փ ն մ

Ուսումնասիրված է ճագարների սրտամկանի միոդինի ԱՏՖԱԳԱՅԻՆ ակտիվությունը դիֆտերիային վնասումից և մի քանի դեղամիջոցների օգտագործումից հետո:

Որոշ բիոպրեպարատների օգտագործումը խթանում է ԱՏՖԱԳԱՅԻ ՆՈՐ իզոֆերմենտների ակտիվիզը:

I. E. SADOKOVA, S. S. OGANESSIAN

ATP-ASE ACTIVITY OF CARDIAL MUSCULAR MYOSIN IN RABBITS AFTER DIPHTHERITIC INJURY AND THE USE OF SOME PREPARATIONS

Summary

The preparations of myosin from rabbits' heart were studied, which were intact by diphtheritic injury after the application of diphtheritic toxin and the complex of preparations. The application of biopreparations stimulated the synthesis of new isoenzymes of ATP (adenosine triphosphatase).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бэйли Дж. Методы химии белков, 1965, М., «Мир».
2. Колчин С. П. Докл. АН СССР, 1967, 176, 3, 738.
3. Колчин С. П., Салтыкова В. А. Кровообращение, 1969, 2, 3, 3.
4. Петушкова Е. В. Введение в кинетику ферментативных реакций, 1972, Мос. гос. ун-т им. М. В. Ломоносова, М.
5. Садокова И. Е. Изв. АН СССР, сер. биол., 1974, 1, 61.
6. Семенова Л. А., Мартынюк Р. А., Целлариус Ю. Г. Биофизические основы патологического состояния мышц и энергетическое обеспечение сократительного аппарата, матер. конф., Тбилиси, 1973, 217.
7. Чернышева Г. В. II Всесоюзная конференция по биохимии мышечной системы, тезисы докл., Л., 1972, 232.
8. Katz A. M., Repke D. J., Rubin B. B. Circul. Res., 1966, 19, 3, 611.
9. Kimata S., Morkin E. Amer. J. Physiol., 1971, 221, 1706.
10. Lowry O. H., Lopez J. A. J. Biol. Chem., 1946, 162, 421.
11. Luchi R. J., Kritcher E. M., Thyrum P. T. Circul. Res., 1969, 24, 4, 513.
12. McCarl R. L., Margossian S. S., Jackman L. M., Webb R. L. Biochemistry, 1969, 8, 9, 3659.
13. Nebel M. L., Bing R. J. Arch. Internal. Med., 1963, 111, 2, 190.
14. Oganessian S. S., Zamlintan T. S., Bay N. V., Petrossian V. P., Koshkarian A. O., Martirosian I. O., Etlon M. A. J. Mol. Cell. Card., 1973, 5, 1, 1.
15. Olson K. E., Ellenbogen E., Iyengar R. Circulation, 1961, 24, 2, part 2, 471.

УДК 616.127—005.8:616.152—074

И. И. ЕВНИНА, Ц. Э. ПАЙКИНА, В. М. СОЛОВЬЕВ,
Е. М. АФАНАСЬЕВА, А. Е. СОКОЛОВА

УРОВЕНЬ ЭЛЕКТРОЛИТОВ И АДЕНОЗИНТРИФОСФАТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ОСТРОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Изучалась система активного транспорта ионов—активность аденозинтрифосфатазы (АТФ-азы) и ее изоэнзимов в эритроцитах периферической крови, а также концентрация калия и натрия в плазме и эритроцитах у 125 больных острой ишемической болезнью сердца (ИБС) в возрасте от 17 до 79 лет. Больные были разделены на 2 группы. В I группу вошли больные (34) со стенокардией покоя и напряжения, без некроза миокарда, во II—с острым инфарктом миокарда (91).

Активность АТФ-азы и ее изоэнзимов (Mg^{2+} —зависимой—J-АТФ-азы и Na^{+} — K^{+} —зависимой—S-АТФ-азы) определялась в гемолизатах эритроцитов по методу Brewer et al. (1968), концентрация электролитов в плазме и эритроцитах—методом пламенной фотометрии. Исследования проводились при поступлении больных в стационар (1—2 суток) и перед выпиской, что соответствовало 12—15-м суткам при сте-