

С. С. ОГАНЕСЯН, Н. М. ОГАՇԵՅԱՆ, Т. С. ЗАМИНЯН,
М. А. ВАРՕՅԱՆ, А. Б. ЗАХАРЯՆ

СОСТАВ МИОФИБРИЛЛЯРНЫХ БЕЛКОВ МИОКАРДА КРОЛИКОВ В УСЛОВИЯХ ВЫСОТНОЙ ГИПОКСИИ И В ПЕРИОД РЕАДАПТАЦИИ

Литературные сведения об изменениях миофибриллярных белков сердечной мышцы, их качественной характеристики при длительном нахождении животных в условиях высотной гипоксии весьма малочисленны [2—8].

В настоящей работе была поставлена задача определения количественного соотношения миофибриллярных белков левого и правого желудочков сердца животных в условиях длительной высотной гипоксии и в период реадaptации, осложненной и неосложненной экспериментальным стенозом аорты.

Материал и методы. Опыты проведены на кроликах породы «Шиншилла» обоего пола весом 2—2,5 кг. Животные были разделены на 3 группы по 5—7 кроликов в каждой. I группу составили интактные животные, находившиеся на высоте 1000 м над уровнем моря (контрольная группа). Во II группу вошли животные, подвергшиеся длительной адаптации (в течение 9—12 месяцев) к высоте 2000 м над уровнем моря на станции Нор-Амберд горы Арагац. У части животных этой группы было произведено сужение восходящей части аорты по Ф. З. Меерсону (1960). Миокард животных был исследован на 2, 7 и 30-ые сутки после оперативного вмешательства. III группу составили кролики, длительно адаптированные к высоте 2000 м и переведенные вновь на высоту 1000 м с целью выявления реадaptационных изменений.

Миофибриллярные белки были выделены отдельно из левого и правого желудочков сердца кроликов [9]. Относительное содержание отдельных миофибриллярных белков и их субъединиц определяли методом электрофоретического разделения на 10% ном полиакриламидном геле в присутствии 0,1% додецилсульфата натрия и бета-меркаптоэтанола. Градиент тока 8 мА на трубку, длительность разделения 7—8 час. [10]. Электрофореграммы окрашивали амидо-черным. Величину площадей полос белков на электрофореграммах рассчитывали с помощью денситографа 301-Е. Идентификацию белков и их субъединиц, расчет молекулярных весов производили с помощью электрофореза в тех же условиях очищенных миофибриллярных белков—миозина, тропомиозина, тропонина, а также маркеров—яичного альбумина, трипсина, рибонуклеазы и цитохрома С. Концентрацию белков определяли по азоту (микрокельдаль).

Результаты и обсуждение. Сопоставление электрофореграмм миофибриллярных белков левого и правого желудочков сердца контрольной группы животных не выявило существенных различий. Оба белковых препарата характеризуются большим содержанием актина и субъединицы тропонина-I (ингибитора АТФ-азы актомиозина), а также на-

личием 2 легких цепей миозина: ЛЦ₁ — 27,000 дальтон и ЛЦ₂ — 18,000 дальтон.

Длительное нахождение животных на высоте 2000 м приводит к четким изменениям относительного содержания различных миофибриллярных белков в обоих желудочках. Из табл. 1 видно, что хроническая гипоксия ведет к значительному возрастанию содержания тяжелых цепей миозина, содержание актина снижается, в левом желудочке отмечается увеличение, а в правом снижение содержания тропонина-I. Учитывая регуляторную роль этой субъединицы для АТФ-азы актомиозина, такое различие нужно считать важным. Наблюдаются различия между левым и правым желудочком и в содержании легких цепей миозина. Относительное содержание белка 24 000 дальтон и 2-й легкой цепи миозина снижается в обоих желудочках. Обнаруживается изменение подвижности некоторых электрофоретических полос, что указывает на появление сдвигов в их суммарном заряде.

В III группе животных через месяц после возвращения на высоту 1000 м над уровнем моря наблюдаются реадaptационные изменения в белковом составе миофибрилл. В обоих желудочках отмечается дальнейшее увеличение содержания α -актинина, 1-й легкой цепи миозина. Содержание актина продолжает уменьшаться и составляет около 50% в левом и 70% в правом от контрольных величин. Отмечается значительное увеличение содержания тропомиозина в правом желудочке. Содержание тропонина-I и белковой фракции 24,000 дальтон имеет тенденцию к восстановлению.

Экспериментальный стеноз аорты у животных был вызван на 2-й день после выхода из условий высотной гипоксии. Электрофореграммы

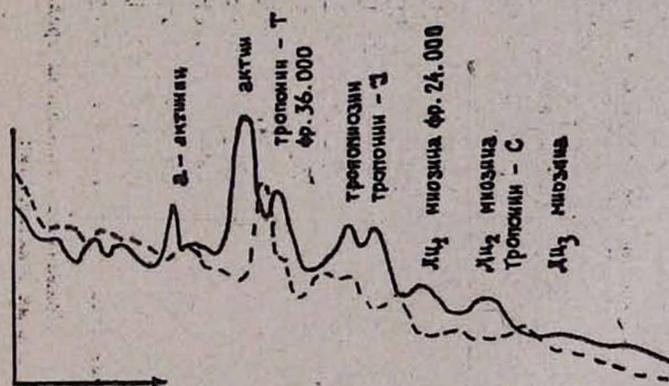


Рис. 1. Электрофоретическое разделение миофибриллярных белков левого желудочка сердца кролика на 30-й день (—) и на 2-й день (---) стеноза аорты. 10%-ный полиакриламидный гель, 0,1%-ный додецилсульфат натрия, 0,1%-ный β -меркаптоэтанол.

белков, полученные на 2-й день стеноза аорты сильно отличаются от фореграмм, полученных на 7 и 30-й день (рис. 1). Значительные сдвиги в содержании отдельных фракций, вероятно, обусловлены оператив-

Таблица 1

Количественное содержание миофибриллярных белков в миокарде кроликов в %

Фракции белков	Левый желудочек				Правый желудочек			
	контрольная группа животных	хроническая гипоксия	реадаптивная группа животных	группа с сужением аорты	контрольная группа животных	хроническая гипоксия	реадаптивная группа животных	группа с сужением аорты
Тяжелые цепи миозина	3,9±1,7	8,2±1,7	—	—	3,4±2,2	8,8±2,2	—	—
α — актинин	4,5±0,6	5,0±0,8	6,9±1,1	8,5±1,3	4,0±0,8	4,5±1,0	5,3±1,1	6,0±1,7
Актин	17,8±1,6	13,5±2,1	8,6±1,9	17,0±0,8	16,6±1,4	13,5±1,0	12,0±1,9	12,6±0,8
Тропонин — Т	5,6±1,5	5,8±1,2	5,7±0,9	6,3±0,9	5,2±0,7	7,0±0,0	5,5±2,0	5,2±1,3
Фракция 36,000 дальтон	12,1±1,0	11,6±2,5	11,1±2,4	7,0±1,0	14,0±1,4	13,2±0,7	12,0±1,4	—
Тропомиозин	7,0±1,3	5,5±0,3	7,6±2,1	7,3±0,3	6,0±0,8	8,5±1,0	12,9±2,1	10,4±1,3
Тропонин — I	12,6±1,4	16,6±1,4	14,2±2,6	11,6±2,7	11,5±1,7	8,5±1,7	13,5±2,0	10,7±1,6
1-я легкая цепь миозина	5,4±1,3	5,8±1,3	7,9±2,4	6,8±2,3	4,5±0,6	5,7±1,2	—	6,7±0,9
Фракция 24,000 дальтон	7,9±0,9	2,0±0,0	5,3±2,7	4,6±1,0	9,0±0,2	2,7±0,7	9,4±2,6	5,6±1,2
2-я легкая цепь миозина	4,6±0,5	3,5±1,2	8,3±2,8	4,0±0,0	5,1±0,5	2,2±0,7	8,5±3,7	4,0±0,0
Тропонин С и 3-я легкая цепь миозина	4,1±0,5	3,0±0,0	—	5,0±0,0	4,5±0,5	—	—	—

Примечание. Приведены средние величины (из 4—10 определений) с квадратическими отклонениями.

ным стрессом, приводящим к сильному изменению экстрагируемости отдельных миофибриллярных белков. Учитывая, что период обновления миофибриллярных белков составляет 6—7 дней [11, 12], сдвиги в белковом составе миофибрилл, наблюдаемые на 2 и 7-й день стеноза аорты, трудно объяснить замедлением или усилением синтеза отдельных субъединиц.

На 30-й день после экспериментального стеноза аорты у животных было обнаружено, что дополнительная рабочая перегрузка на левый желудочек прекращает дальнейшее уменьшение содержания актина, наблюдаемое в период реадaptации, вызывая повышение его относительного содержания. Такая же картина характерна для тропонина-I, относительное содержание которого в этой группе животных приближается к контрольному уровню. Существенных изменений в содержании легких цепей миозина не обнаруживается, содержание тропонина-C (Связывающей субъединицы) также приближается к контрольной величине. В правом желудочке наблюдаются более быстрые обратные изменения содержания тропонина-I и тропомиозина, а также фракций 1-й легкой и 2-й легкой цепи миозина. Относительное содержание актина, α -актинина и других белковых фракций существенно не изменяется. Отметим, что разделение белковых полос на электрофореграммах правого желудочка происходит хуже, и 3-ья легкая цепь миозина не выявляется.

Полученные результаты указывают, что дополнительная рабочая перегрузка на миокард, предварительно адаптированный к условиям гипоксии, приводит к восстановлению сдвигов в содержании некоторых важнейших миофибриллярных белков, вызванных гипоксией. Сдвиги в белковом составе миофибрилл, наблюдаемые при длительной высотной гипоксии, указывают на неодинаковые изменения синтеза и распада отдельных субъединиц белков сократительного аппарата. В данном случае может доминировать перегрузка сердца давлением, вызванная нарушениями в малом круге кровообращения [13]. Гипертрофия миокарда в этих условиях проявляется в большей степени в правом желудочке. Однако в наших экспериментах обнаруживаются изменения в содержании белков и их субъединиц в обоих желудочках, что указывает на вовлечение целого сердца в адаптационную реакцию. На изменение функции сократительного аппарата в условиях длительной гипоксии указывает значительное снижение относительного содержания актина и ингибиторной субъединицы тропонина, которые имеют непосредственное отношение к использованию энергии АТФ через регуляцию АТФ-азной активности актомиозина, что согласуется с данными об изменении АТФ-азной активности, особенно у молодых животных в условиях гипоксии [7].

Нами также показано, что гравитационная перегрузка крыс вызывает повышение АТФ-азной активности актомиозина миокарда, что сопровождается уменьшением относительного содержания тропонина-I в

комплексе актомиозина [14]. Следовательно, изменения в белковом составе миофибрилл значительно влияют на функциональное состояние сократительного аппарата миокарда. Обнаруженные нами сдвиги в белковом составе миофибрилл согласуются с имеющимися данными, полученными при гипертрофии миокарда вследствие сужения аорты [1].

Несколько труднее в настоящее время объяснить восстановление нормальной картины количественного распределения некоторых белков миофибрилл, в частности, актина и тропонина-I в левом желудочке при рабочей перегрузке, вызванной стенозом аорты у адаптированных к гипоксии животных. Этот факт требует дальнейшего изучения и сопоставления с результатами гемодинамических и электрофизиологических параметров функционирования желудочков сердца в этих условиях.

Выводы

1. Хроническая гипоксия вызывает четкие изменения в белковом составе миофибрилл левого и правого желудочков сердца кроликов. Выявляется снижение содержания актина, белковой фракции 24,000 дальтон и ингибитора АТФ-азы актомиозина в правом желудочке.

2. В период реадаптации в течение месяца наблюдается восстановление нарушений в белковом составе миофибрилл, однако содержание актина продолжает уменьшаться, а 1-й легкой цепи миозина—увеличиваться.

3. Экспериментальный стеноз аорты у адаптированных к гипоксии животных вызывает восстановление нормальной картины распределения некоторых белков в миофибриллах, особенно левого желудочка (актин, 1-я легкая цепь миозина).

Институт кардиологии им. Л. А. Оганесяна
МЗ Арм. ССР, Институт физики Госкомитета
по использованию атомной энергии

Поступило 8/VI 1978 г.

Ս. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Ե. Մ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Տ. Ա. ԶԱՄԻՆՅԱՆ,
Մ. Ա. ՎԱՐՈՍՅԱՆ, Ա. Բ. ԶԱՔԱՐՅԱՆ

ՀԱԳԱՐՆԵՐԻ ՍՐՏԱՄԿԱՆԻ ՄԻՈՖԻՔՐԻԼԱՅԻՆ ՍՊԻՏԱԿՈՒՅՆԵՐԻ
ԿԱԶՄԸ ԲԱՐՉՐԱԳԻՐ ԹԹՎԱԾՆԱՅԻՆ ՊԱԿԱՍԻ
ԵՎ ՎԵՐԱՀԱՐՄԱՆ ԸՆԹԱՅՔՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Բարձրագիթ թիվածնային պահասին նախորդ հարմարված սրտամկանի աշխատանքային լրացուցիչ ծանրաբեռնվածությունը բերում է որոշ կարևոր միոֆիբրիլային սպիտակուցների պարունակության տեղաշարժերի վերականգնման:

THE STRUCTURE OF MYOFIBRILLAR PROTEINS IN RABBIT MYO-
CARDIUM IN CONDITIONS OF HIGH-ALTITUDE HYPOXIA DURING
THE PERIOD OF READAPTATION

Summary

Additional load on myocardium, preliminarily adapted to the condition of hypoxia brings to some restoration of the shifts in the structure of some important myofibrillar proteins.

ЛИТЕРАТУРА

1. Заминян Т. С., Кайфаджян М. А., Оганесян С. С. III Всесоюзная конф. по биохимии мышц. Л., 1978, 71.2.
2. Altand P. D., Highman B. Am. J. Physiology., 1971, 221, 388.
3. Widimsky J., Urbanova D., Ressel J., Ostadal B., Pelouch V. and Prochazka J. Bull. Physiol. Pathol. Resp. 1972, 8, 1400.
4. M. Gratin J., Prochazka J., Pelouch V. and Ostadel B., J. Appl. Physiol, 1973, 34, 289.
5. Ressel J., Urbanova D., Widimsky J. J., Ostadel B., Pelouch V. and Prochaska J., Respiration, 1974, 31, 38.
6. Aschehbrenner V., Zak R., Cuttilletta A. and Rabinowitz M. Am J. Physiol. 1971, 5, 221.
7. Pelouch V., Mc Grath J., Prochazka J. Physiol. Bohemoslov., 1972, 18, 21; 8. Pelouch V., and Poupa O. Physiol. Bohemoslov., 1969, 18, 361.
9. Morkin E., Katagiri T., Bloch. Bioph. Acta, 1974, 342, 262.
10. Weber K., Osborn M. J. Biol. Chem., 1969, 244, 4406.
11. Zak R., Fischman D. A., In Cardiac hypertrophy Ed. Alpert N. Acad. Press. N-Y, 1971, 247.
12. Morkin E., La Raia P. J. New England J. Medicine, 1974, 290, 445.
13. L. Gibb. S. P. Bishop, R. Neshor, W. F. Robinson, A. h. Berry and F. A. Kruger. J. Mol. and Cell Cardiology, 1976, 8, 419.
14. S. S. Oganessian, T. S. Zaminian, M. A. Eloian R. A. Gevorkian and A. R. Movsesian Second Jointed Symposium on Myocardial Metabolism US—USSR, 1975, 29.