

В. П. ПЕТРОСЯН, М. А. ВАРОСЯН

БИОСИНТЕЗ И НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРТРОФИИ МИОКАРДА

В настоящее время доказано, что в возникновении мышечного сокращения особое значение имеет взаимодействие внутриклеточного кальция с тропонин-тропомиозиновым комплексом [1—8], что приводит к изменению структуры тропонина и стерического положения тропомиозина относительно актина. Благодаря этим изменениям становится возможным взаимодействие актина и миозина [5, 8—13]. Естественно, сила и частота мышечного сокращения во многом должны зависеть от нативного состояния тропомиозинового комплекса.

В настоящей работе изучены некоторые свойства тропонина и тропомиозина, выделенных из миокарда кроликов с экспериментальным сужением восходящей аорты.

Материал и методы исследования

Опыты проведены на 50 кроликах породы «Шиншилла» весом 2—2,5 кг. Восходящую аорту суживали на 70% от исходного диаметра по методу Ф. З. Меерсона [14]. Наркотизированные животные забивались в разные сроки после создания порока—на 2, 30, 90 и 180-й дни, соответственно составив I, II, III, IV группы. В каждой группе было по 10 животных. Контрольную группу составили 10 кроликов.

За два часа до забивки животным в/в вводили гидролизат белка, меченный углеродом C^{14} , по 200 мккюри на кг веса.

Миофибриллярные белки—тропонин и тропомиозин—выделяли раздельно из левого и правого желудочков сердца по методу Бейли [15] в модификации Драбиковского [16]. Электрофорез белков проводили согласно Вебер и Осборн [17]. Электрофореграммы денситометрировали на денситометре марки MGF, приспособленном для этой цели. Относительную величину площади каждой полосы на денситограммах рассчитывали планиметром.

Комплексообразование тропонина с тропомиозином регистрировали при возрастании относительной вязкости раствора тропомиозина после внесения в него тропонина. Соотношение тропомиозин/тропонин соответствовало 7:2, при pH, равном 7,0, в растворе 1,0 М хлористого

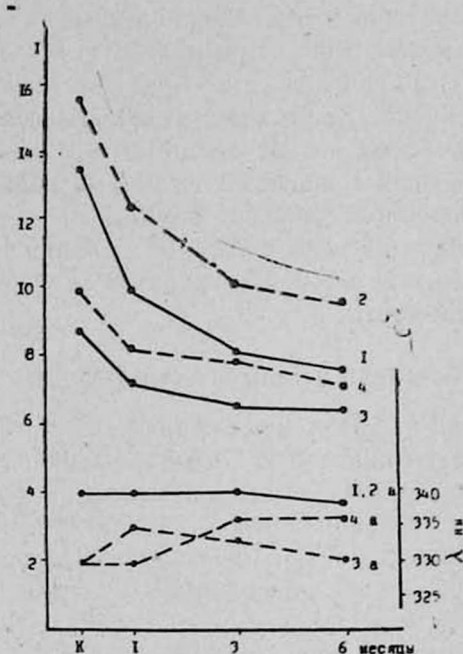
калия. Вязкость измеряли в вискозиметре типа «Уббелоде». Температура измерения +21°C.

Интенсивность триптофановой флуоресценции тропонина до и после добавления 0,1 мМ кальция исследовали при pH 7,5 на спектрофлуориметре 2MPF—2A фирмы «Хитачи» (Япония).

Сердце, левый и правый желудочки раздельно взвешивались для определения сердечного и желудочковых индексов [18]. Концентрацию белков определяли по Лоури [19].

Результаты исследований

Исследование показателей сердечного и желудочковых индексов выявило определенную зависимость степени гипертрофии сердца, левого и правого желудочков от срока вызванной патологии.



В миокарде левого желудочка II группы животных относительное количество тропонина-С снижается на 17,8, тропонина-I—на 13,47, а количество тропонина-T повышается на 16,42%. Количественное соотношение субъединиц в тропонине, выделенном из правого желудочка II группы животных, также отличается от контроля.

Таким образом, при гипертрофии левого желудочка вследствие сужения восходящей аорты происходят значительные сдвиги в количественном соотношении субъединиц. Такие же изменения наблюдались в случае авитаминоза Д в скелетных мышцах кроликов [23]. Снижение количества тропонина-С, по-видимому, можно связать с нарушением его биосинтеза или его включением в милофиламенты. Для выяснения этого вопроса в другой серии экспериментов нами изучен биосинтез тропонина и тропомиозина.

Как показали наши опыты, с увеличением массы левого желудочка и снижением количества тропонина-С во всех группах исследованных животных определяется усиленный синтез тропонина. Так, во II группе животных удельная радиоактивность тропонина левого желудочка увеличивается на 53,1%, а правого остается примерно на уровне контроля. Включение радиоактивной метки в тропомиозин обоих желудочков не изменяется (табл. 1).

Таким образом, в миокарде левого желудочка повышение синтеза тропонина начинается с первого месяца гипертрофии, в то время как увеличение синтеза тропонина в правом желудочке запаздывает. Усиленный синтез тропомиозина в обоих желудочках начинается с 3-го месяца сужения аорты, причем в левом желудочке он протекает более быстро. Через 6 месяцев после создания порока синтез тропомиозина в обоих желудочках выравнивается. Сопоставляя данные о синтезе и субъединичном составе тропонина левого желудочка при гипертрофии можно сказать, что с увеличением синтеза тропонина определяется понижение синтеза его субъединицы—тропонина-С и тропонина-I—с одновременным увеличением количества тропонина-T.

Сдвиг в количественном соотношении субъединиц в тропонине левого желудочка, естественно, может повлиять на некоторые его физико-химические свойства, что приводит к нарушению сократительной функции сердечной мышцы. Одно из основных свойств тропонина, как известно, заключается в рецепции ионов кальция в процессе мышечного сокращения. Взаимодействие ионов кальция с тропонином вызывает изменение структуры белка, что можно обнаружить, исследовав его УФ-флуоресценцию.

С этой целью нами была исследована флуоресценция растворов тропонина до и после добавления в пробы кальция 0,1 мМ (конечная концентрация) в среде 1,0 М хлористого калия и 1,0 мМ 2,3-димеркаптоэтанола при pH, равном 7,5.

В наших опытах (рис. 1) ионы кальция увеличивали флуоресценцию раствора тропонина левого желудочка в контроле на 15,5, а правого желудочка—на 13,8%. Максимум спектра свечения как для тропо-

Таблица 1

Удельная радиоактивность (импульс/мин./мг) тропонина и тропомиозина и количественное соотношение
субъединиц в тропонине (в %)

Группы животных		Тропонин		Тропоминозин		Левый желудочек			Правый желудочек		
		левый желудочек	правый желудочек	левый желудочек	правый желудочек	ТН—С	ТН—1	ТН—Т	ТН—С	ТН—1	ТН—Т
Контроль	$M \pm m$	223 ± 19	294 ± 20	252 ± 16	328 ± 32	$22,52 \pm 0,57$	$29,68 \pm 0,56$	$47,78 \pm 0,97$	$22,62 \pm 1,07$	$29,53 \pm 0,95$	$47,85 \pm 1,09$
I	$M \pm m$	—	—	—	—	$20,09 \pm 1,00$	$33,94 \pm 1,93$	$45,97 \pm 1,27$	$21,19 \pm 1,58$	$28,88 \pm 1,46$	$49,93 \pm 1,58$
	P					<0,02	<0,02	<0,05	>0,5	>0,5	>0,5
II	$M \pm m$	342 ± 24	315 ± 13	240 ± 4	308 ± 20	$18,51 \pm 0,84$	$25,86 \pm 2,10$	$55,63 \pm 1,61$	$20,38 \pm 1,48$	$25,62 \pm 1,13$	$54,00 \pm 1,54$
	P	<0,001	>0,5	>0,5	>0,5	<0,001	<0,05	<0,001	<0,1	<0,01	<0,002
III	$M \pm m$	476 ± 30	444 ± 21	325 ± 7	377 ± 9	$16,14 \pm 1,50$	$24,56 \pm 2,00$	$59,29 \pm 2,80$	$19,17 \pm 1,64$	$25,31 \pm 0,87$	$55,32 \pm 1,05$
	P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,25	<0,001	<0,02	<0,001	<0,05	<0,002	<0,001
IV	$M \pm m$	833 ± 36	585 ± 165	560 ± 12	738 ± 28	$15,05 \pm 1,21$	$22,10 \pm 1,50$	$62,85 \pm 2,68$	$17,47 \pm 1,27$	$23,21 \pm 1,40$	$59,32 \pm 1,62$
	P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,02	<0,001	<0,001

нина левого, так и правого желудочка соответствовал 340 нм. Во II группе животных интенсивность флуоресценции тропонина без наличия кальция в левом желудочке снижается на 26,7, а в правом—на 17,25%. При наличии кальция интенсивность флуоресценции возрастает в левом желудочке на 24,24, а в правом—на 13%. В тропонине левого желудочка III группы животных интенсивность флуоресценции тропонина уменьшается на 40,7%. При наличии же кальция интенсивность свечения повышается на 25%.

К этому сроку патологии в правом желудочке наблюдается снижение флуоресценции на 21,2, а при наличии кальция—увеличение ее на 20%. Максимум спектра свечения во II, III и IV группах сдвигается в коротковолновую область только при наличии кальция. В I группе животных интенсивность флуоресценции тропонина левого желудочка снижается на 45,2, а правого—на 27,6%. При наличии кальция она увеличивается соответственно на 27 и 19%.

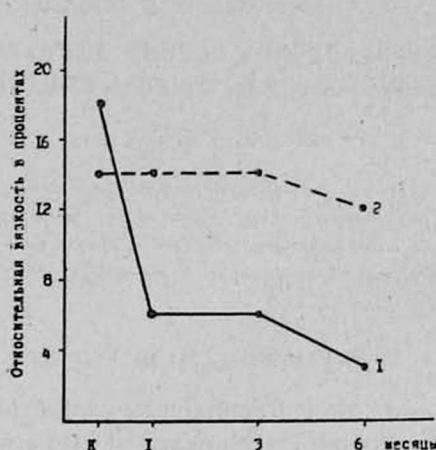


Рис. 2. Относительная вязкость комплекса тропомиозина—тропонина левого и правого желудочков. 1. Левый желудочек; 2. Правый желудочек.

Таким образом, гипертрофия миокарда, наступившая в результате сужения восходящей аорты, ведет к увеличению интенсивности флуоресценции тропонина при наличии кальция, вследствие изменения конформации белка, при которой триптофановые остатки попадают внутрь гидрофобных областей белка [8]. Эти изменения в тропонине левого желудочка начинаются уже с первого месяца патологии и углубляются с увеличением ее срока. В тропонине правого желудочка конформационные сдвиги наступают лишь на третий месяц патологии и остаются на том же уровне в дальнейшем.

В следующей серии экспериментов было исследовано свойство тропонина повышать вязкость раствора тропомиозина вследствие их комплексобразования [1, 9, 10, 20—23].

Наши эксперименты показали, что смешивание растворов тропомиозина и тропонина, выделенных из левого желудочка, в контроле ведет к увеличению относительной вязкости раствора тропомиозина на

18%, а смешивание этих же растворов, выделенных из правого желудочка в этой же группе животных,—на 14%. Гипертрофия левого желудочка ведет к снижению этого показателя во всех исследованных группах животных (рис. 2), несмотря на увеличение количества тропонина-Т в тропонине.

Резюмируя полученные нами данные, можно предположить, что при гипертрофии миокарда усиливается биосинтез регуляторных белков.

Усиленный биосинтез тропонина сопровождается изменением количественного распределения его субъединичного состава, повышением степени α -спиральности тропонина под воздействием кальция и нарушением комплексообразования между тропомиозином и тропонином.

Институт кардиологии им. Л. А. Оганесяна,
МЗ Армянской ССР

Поступила 3/VI 1980 г.

Վ. Պ. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ, Մ. Հ. ՎԱՐՈՍՅԱՆ

ՍՐՏԱՄԿԱՆԻ ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ԳԵՐԱՃԻ ԺԱՄԱՆԱԿ ԿԱՐԳԱՎՈՐԻՉ
ՍՊԻՏԱԿՈՒՅՆԵՐԻ ԿԵՆՍԱՍԻՆԹԵԶԸ ԵՎ ՄԻ ՔԱՆԻ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Սրտի ձախ փորոքի զերաճը վերընթաց աորտայի փորձարարական նեղացման դեպքում հանգեցնում է տրոպոնինի ենթամիավորների քանակական հարաբերակցության փոփոխության, տրոպոնինի - α պարուլի աստիճանի բարձրացման և կարգավորիչ սպիտակուցների կենսա-սինթեզի մեծացման: Փոփոխվում է տրոպոնինի և տրոպոմիոզինի փոխազդեցությունը:

V. P. Petrossian, M. H. Varossian

Biosynthesis and Some Peculiarities of Regulative Proteins in Experimental Myocardial Hypertrophy

S u m m a r y

Hypertrophy of the left ventricle in experimental narrowing of the ascending aorta causes change of the quantitative correlation of troponine subunit, rise of α -spiral-ity of troponine and increase of the regulative proteins biosynthesis. The inter-reaction between troponine and tropomyosin changes.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Drabkowski W., Dabrowska R. and Barylko B. Acta Biochim. Pol., 1973, 20, 2, 181.
2. Eaton B. L., Komlitz D. R., Elsenberg E. Biochemistry, 1975, 12, 2718.
3. Murray A. C., Kay C. M. Biochem. Biophys. Res. Com., 1971, 44, 1, 237.
4. Paulsen G., Eur. J. Biochem., 1976, 61, 1, 77.
5. Johnson J. D., Charlton S. C., Potter J. D. J. Biol. Chem., 1979, 254, 9, 3497.
6. Smillie L. B. Trends Biochem. Sci., 1979, 4, 7, 151.
7. Potter J. D., Gergely J. Biochem., 1974, 13, 2697.
8. Han M. H., Benson F. S. Biochem. Biophys. Res. Comm., 1970, 38, 378.
9. Margossian S. S., Cohen C. J. Mol. Biol., 1973, 81, 409.
10. Potter J. D., Gergely J. Biochem., 1974, 13, 2647.
11. Levis P. C. and Kraft E. L. Arch. Biochem. Biophys., 1978, 186, 2, 411.
12. Hinke M. T., McCubbin W. D., Kay C. M. Febs Lett., 1977, 83, 1, 131.
13. Seamon K. B., Hartshorn D. J., Bothner-By A. Biochem., 1977, 16, 18, 4039.
14. Меерсон Ф. З. Компен-

саторная гиперфункция и недостаточность сердца. М., 1960. 15. *Bailey K.* Biochem. J., 1948, 43, 271. 16. *Drabikowski W. et al.* Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung., 1969, 4, 112. 17. *Weber K., Osborn M.* J. Biol. Chem., 1969, 244, 4405. 18. *Оганесян Н. М. и др.* Кровообращение, 1979, 12, 4, 14. 19. *Lowry O. H. et al.* J. Biol. Chem., 1951, 193, 265. 20. *Raggi A.* Ital. J. Biochem., 1977, 26, 5, 338. 21. *Drabikowski W. et al.* In: Calcium binding proteins. Warszawa, Amsterdam, 1974, 69. 22. *Ebashi S. and Kodama G.* J. Biochem., 1965, 58, 107. 23. *Francis M. J. O. et al.* Biochem. Soc. Trans., 1978, 6, 6, 1273.