

It is supposed that the effect of intal on the microcirculation is due to the limiting of the lipids peroxide oxidation.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амагуни В. Г., Бабаян С. Б. Журнал эксперим. и клинич. мед. АН Арм. ССР, 1987, 3, 242—245.
2. Сафарян М. Д., Амагуни В. Г., Бабаян С. Б. Журнал эксперим. и клинич. мед. АН Арм. ССР, 1986, 4, 348—352.
3. Сисакян С. А. Кровообращение, 1973, 4, 3—7.
4. Сисакян С. А., Аракелян И. Г. В кн.: «Перекисное окисление липидов в норме и патологии». Перспективы использования антиоксидантов. Ереван, 1987.
5. Сисакян С. А., Матевосян Р. Ш. Кровообращение. 1975, 3, 11—15.
6. Davies R. J., Moodley I. Pharmacol. and Ther., 1982, 3, 279—297.
7. Foreman J. C. Garland Z. G. Brit. J. Pharm., 1977, 3, 473—474.
8. Roy A. C., Warren B. T. Biochem. Pharmacol., 1974, 4, 917—920.

УДК 616.12—089.843—008.9

А. О. КОШКАРЯН, И. Р. СААКЯН, А. Г. ПИЛОЯН

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА АКТОМИОЗИНА СЕРДЕЦ ДОНОРА И РЕЦИПИЕНТА ПРИ ГЕТЕРОТОНИЧЕСКОЙ ПЕРЕСАДКЕ СЕРДЦА У КРЫС

Функциональная полноценность трансплантата при пересадке сердца определяется степенью иммунологической совместимости, а также рядом других факторов, влияние которых выражается обычно изменениями метаболизма и архитектоники кардиомиоцитов, что возможно определяет и опережает несостоятельность пересаженного сердца. Однако в литературе среди работ по сравнительному изучению метаболизма сердца донора и реципиента [1, 2, 4, 9, 10] не удалось встретить данных по изучению сократительных белков миокарда.

Учитывая это в данной работе проведено сравнительное изучение физико-химических свойств актомиозина сердец донора и реципиента при аллогенной пересадке сердца у крыс. Это изучение основано на флуоресцентном анализе актомиозина миокарда и заключается в сопоставлении спектров триптофанового свечения в растворах актомиозина сердца донора и реципиента, а также исследовании изменений способности белка к кооперированию с Mg^{2+} АТФ в зависимости от конформационных свойств макромолекулы.

Материал и методы. Пересадку сердца производили от крыс линии Август (донор) крысам линии Вистар (реципиент) в гетеропозицию по методу [16]. Иммуносупрессорную терапию не проводили. Крыс забивали (эфирный наркоз) под контролем цитохимического анализа активности СДГ лимфоцитов периферической крови (раннего критерия криза отторжения) на 2—6-е сутки после пересадки сердца. Активность лимфоцитов СДГ определяли в мазках крови за 1—2 суток до операции (исход) и далее ежедневно после пересадки до забоя крыс по методу [11]. По аналогичной схеме проводили регистрацию ЭКГ сердец донора и реципиента.

После декапитации крыс единым разрезом вскрывали грудную и брюшную полости, быстро извлекали собственное сердце и сердце донора. Все манипуляции по выделению актомиозина и его анализу в этих сердцах проводили параллельно. В качестве контроля к ним использовали сердца 4 интактных крыс. Актомиозин выделяли по методу [17] концентрацию белка определяли по методу [20]. Флуоресцентный анализ актомиозина проводили в растворе 0,1 М трис-HCl буфера с 0,6 М KCl pH 6,8 (концентрация белка 150 мкг/мл) в кварцевых кюветках при комнатной температуре на флуоресцентном спектрофотометре марки MPF-2A фирмы «HITACHI».

Сравнение полученных результатов проводили в соответствующей паре сердец донора и реципиента (всего 10 пар) для учета особенностей индивидуального состояния животных и всех манипуляций, связанных с выделением и анализом белка.

Результаты и обсуждение. Сравнение спектров флуоресценции актомиозина миокарда донора и реципиента с существенно различными характеристиками ЭКГ—частота сердечных сокращений, биоэлектрическая активность (рис. 1), через 2–6 суток после аллогенной подсадки сердца у крыс и снижения активности СДГ лимфоцитов крови на 20–50% от исходного уровня выявило определенные различия между исследуемыми спектрами (рис. 2). Из данного рисунка видно, что актомиозин сердца реципиента, как практически интактного сердца, имеет определенный квантовый выход флуоресценции с единственным максимумом спектра возбуждения в области 285–290 нм (при эмиссии 340 нм) и единственным максимумом спектра эмиссии в области 335 нм при возбуждении 288 нм), обусловленный триптофановым свечением. Показано, что при добавлении Mg^{2+} АТФ к раствору актомиозина и в результате их кооперирования квантовый выход флуоресценции актомиозина относительно его исходного уровня (без добавленной АТФ) снижается в среднем на $22,5 \pm 4,75\%$ (контроль—в среднем $24,93 \pm 2,3\%$).

В сердце донора основной флуоресцентный комплекс, обусловленный триптофановым свечением сдвигается в длинноволновую область (295 нм против 290 нм) с появлением наряду с характерным пиком дополнительного с максимумом флуоресценции в области 305 нм. Подавляется квантовый выход флуоресценции. Кроме того, резко снижается или же утрачивается способность белка к кооперированию с АТФ в среднем на $3,0 \pm 1,75\%$; $P < 0,001$.

Выявленные отличия между флуоресцентными характеристиками актомиозина трансплантата и сердца реципиента могут указывать на вероятность перехода макромолекулы в одно из качественно новых конформационных состояний, а утрата способности к кооперированию с АТФ—о существенных ее изменениях при такой конформации. Эти данные совпадают с результатами по различию между спектрами флуоресценции актомиозина миокарда больных с различной степенью функциональных изменений сердца при его пороках [6]. Примечательно, что актомиозин с необычными спектрами флуоресценции отличаются также сниженные активность АТФазы [7] и способность молекулы белка к кооперированию с АТФ [8]. Эти результаты, свидетельствующие об изменениях свойств актомиозина при его конформа-

ционных сдвигах, подтверждаются данными других авторов, полученными на основании биохимических [12—14, 18, 19, 21], ультраструктурных [14, 15] и функциональных [9, 21] исследований сократительных элементов кардиомиоцитов при различных формах сердечной недостаточности и остановке сердца у больных и экспериментальных животных.

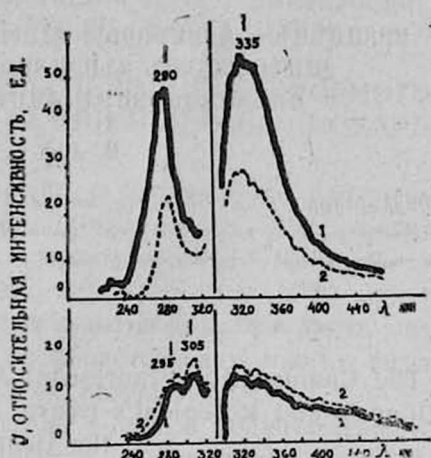
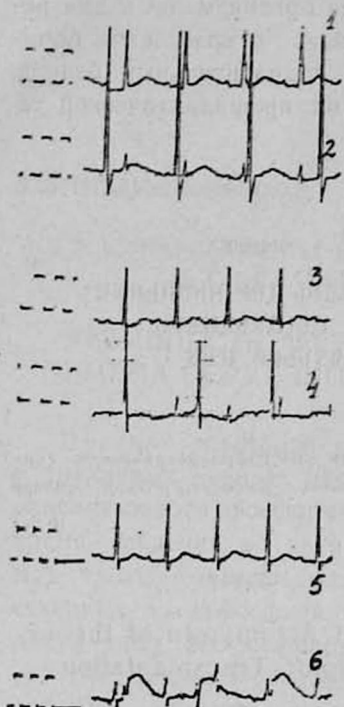


Рис. 1. Сравнительное изучение ЭКГ характеристик сердца донора (Д) и реципиента (Р) в динамике развития криза отторжения. ЭКГ: Р—1,3 и 5, Д—2,4 и 6, где 1 и 2, 3 и 4, 5, и 6—соответственно через 1,2 и 5 суток после пересадки сердца.

Рис. 2. Спектры флуоресценции актомиозина миокарда донора и реципиента при гетеротопической пересадке сердца у крыс. Спектры: возбуждения—слева, эмиссии—справа, верхние—Р, нижние—Д. Везде без добавки Mg^{2+} АТФ—2. Концентрация белка везде 0,15 мкМ/мл. а Mg^{2+} АТФ— $2,5 \cdot 10^{-4}$ М. По оси абсцисс—длина волны, нм, по оси ординат—интенсивность флуоресценции, относительные единицы.

Полученным нами результатам соответствуют также данные [3], где рассматривается возможность развития (или предупреждения) изменений спектров флуоресценции хроматина печени, (сходные с таковыми актомиозина аллотрансплантата), при индукции (или репрессии) катаболизма белков в различных экспериментальных условиях (голод, высокобелковая диета, гормональные влияния и т. д.) у крыс.

Исходя из вышесказанного допускаем, что выявленные изменения флуоресцентных характеристик актомиозина аллотрансплантата и его ЭКГ по сравнению с таковыми реципиента, отражают конформа-

ционные сдвиги в макромолекуле белка, что по-видимому, соответствует основному состоянию биологического функционирования сердца в нефизиологических для него условиях. Выявление конформационных изменений в молекуле сократительных белков аллотрансплантата обосновывает постановку вопроса об изучении природы этих изменений, что важно не только для расширения наших представлений о молекулярных механизмах функциональных изменений сердечной мышцы при тех или иных воздействиях на организм, но и для решения вопросов практического здравоохранения: о возможной обратимости структурно-функциональных сдвигов сократительных белков, в частности, при трансплантации сердца и их профилактической терапии.

Ереванский филиал ВНЦХ АМН СССР

Поступила 15/II 1987 г.

Ա. Հ. ԿՈՇԿԱՐՅԱՆ, Ի. Բ. ՍԱՀԱԿՅԱՆ, Ա. Գ. ՓԻԼՈՅԱՆ

ՍՐՏԱՄԿԱՆԻ ԱԿՏՈՄԻՈԶԻՆԻ ՖԼՈՒՈՐԵՍԿԵՆՏԱՅԻՆ ՎԵՐԼՈՒԾՈՒԹՅԱՆ
ՀԱՄԵՄԱՏԱԿԱՆ ԳՆԱՀԱՏԱԿԱՆԸ ՍՐՏԻ ԱՅԼԱՏԵՂԱՅԻՆ
ՓՈԽՊԱՏՎԱՍՏՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ ԱՌԵՏՏՆԵՐԻ ՄՈՏ

Ա. մ. փ. n. փ. n. i. մ

Ռեցիպիենտի և դոնորի սրտից ստացված ակտոմիոզինի (ԱՄ) ֆլուորեսցենային վերլուծությունը և հալա բերեց որոշակի կառուցվածքաֆունկցիոնալ փոփոխություններ դոնորի սրտի սպիտակուցի մակրոմոլեկուլի մեջ:

A. O. Koshkarian, I. R. Sahakian, A. G. Piloyan

The Comparative Fluorescent Analysis of Actomyosin of the Donor's and Receptient's Hearts in Heterotopic Transplantation of the Heart in Rats

S u m m a r y

The comparative fluorescent study of the myocardium actomyosin solutions of the receptient and donor in allogenous heterotopic transplantation of the heart in rats has revealed definite structural functional changes in the donor's heart albumin micromolecule.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Демин Ю. М., Синявская Л. В., Пилоян А. Г. Тез. докл. 8 Всес. конф., Изд. «Сабчота сакартвело», Тбилиси, Баку, 1979, 201. 2. Зайченко Ю. М., Дворецкий М. И. В сб.: «Вопросы эксперимент. и клинич. кардиологии». Волгоград, 1977, 18—20. 3. Қазарян Р. Р. Автореферат канд. дисс. Ереван, 1980, 35. 4. Қарапетян Т. Д. Автореферат канд. дисс., 1982, 22. 5. Комиссарова И. А. Автореф. докт. дисс. 1983, 42. 6. Кошкарян А. О., Азатян В. Г. Кровообращение, 1985, 18, 33—37. 7. Кошкарян А. О., Гусакова Н. Ф. Тез. доклад. II итогового симпоз. Ереван, 1985, 119—121. 8. Кошкарян А. О., Саакян И. Р., Азатян В. Г., Қарапетян Т. Д. Тез. 3 Всес. науч. конф. Ереван, 1984, 41—43. 9. Микаелян А. Л., Агаджанова Н. Г., Пилоян А. Г. Тез. доклад. 8 конф. Тбилиси. Баку, 1979, 199, Изд. «Сабчота сакартвело». 10. Минасян Л. Г., Хачатурян О. Л., Пилоян А. Г. и др. Тез. науч. конф. Ереван, 1979, 273—276. 11. Нарцисов Р. П.,

Катосова Л. К. Цитология, 1973, 15, 4, 432—438. 12. Оганесян С. С. Автореф. доктор. дисс., 1967, 45. 13. Оганесян С. С. Кровообращение, 1985, 3—7. 14. Чечулин Ю. С. Автореф. доктор. дисс., М., 1969, 43. 15. Шереметьева Г. Д. Автореф. доктор. дисс., М., 1983, 30. 16. Abbott C. P., Lindsey E. C., Creech J. O., De Witt C. W. Arch. Surgery, 1954, 89, 645. 17. Eaily J. R. Biochem. Biophys. Acta, 1947, 506. 18. Klein J., Hog Ch. J. Clin. Invest., 1986, 77, 5, 1694—1698. 19. Koshkorian A. O., Demin J. M. J. of Mol. and Cell. Cardiology, 1980, 12, Suppl. 1, 79. 20. Lowery O. H., Rosenbrough N. et al. Biol. Chem. 1951, 193, 265.

УДК 577.152.2/3:616—005.8

Г. К. ПАРСАДАНЯН, Е. Г. ДЖАНПОЛАДЯН, Л. П. ТЕР-ТАТЕВОСЯН,
И. Г. АСЛАНЯН, Л. В. САРКИСЯН, Е. Л. ХОЕЦЯН

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ УГЛЕВОДНО-ФОСФОРНОГО ОБМЕНА СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ ПРИ ИШЕМИИ МИОКАРДА

Ишемия миокарда сопровождается существенными нарушениями в различных звеньях энергетического обмена, в частности, в системе окислительного фосфорилирования, гликолиза и др. [4—6]. В то же время, сведения об активности гликогенфосфоорилазы (ГФ) при ишемии противоречивы, а данные об активности ряда фосфатаз, ответственных за дефосфорилирование фосфопротеинов и многих низкомолекулярных фосфоэфиров, практически отсутствуют.

Настоящее исследование проведено с целью количественного измерения динамики активности ферментов, участвующих в дефосфорилировании ряда высоко- и низкомолекулярных фосфорных соединений, а также активности ГФ в сердце белых крыс при экспериментальной ишемии на фоне введения различных фармакологических антиангинальных препаратов.

Материал и методика. Опыты проводили на 50 беспородных белых крысах-самцах массой 170—200 г. Животных разделили на 6 групп: I—интактные, II—крысы с экспериментальной ишемией миокарда (ЭИМ) без лечения, III—животные с ЭИМ, получавшие лечение изоптином, в дозе 200 мкг/кг, IV—животные с ЭИМ, получавшие лечение пирроксаном в дозе 1 мг/кг; V—животные с ЭИМ, получавшие лечение обиданом в дозе 1 мг/кг; ; VI—животные с ЭИМ, получавшие лечение препаратом К-5 в дозе 5 мг/кг.

ЭИМ вызывали путем перевязки нисходящей ветви левожелудочковой коронарной артерии. Гомогенаты ткани получали путем измельчения ее в водной среде (1:10).

ГФ (2.4.1.1.) определяли в пробах методом Кори и Иллигворт [13], инкубация их 10 мин при 30°C. Состав среды: 4% гликоген («Merk», ФРГ), 64 мМ глюкозо-1-Р, 4 мМ АМФ (оба «Reanal», ВНР), ТЭМ буфер pH 6,8 (40 мМ трис, 2 мМ ЭДТА, 10 мМ Меркаптоэтанол фирмы «Sigma», США).