

Г. К. ПАРСАДАНЯН

АКТИВНОСТЬ ФОСФОПРОТЕИНФОСФАТАЗЫ, СОДЕРЖАНИЕ ФОСФОПРОТЕИНОВ И БЕЛКОВ СУБКЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТИРЕОТОКСИКОЗЕ

Действие гормонов щитовидной железы на ряд обменных процессов в различных, в том числе и мышечной, тканях, особенно широко изучалось в последнем десятилетии.

Имеющиеся обзоры [1—4] как клинических, так и экспериментальных работ, позволили составить представление об изменениях в интенсивности основного обмена, в обмене белков, углеводов, липидов, а также и в некоторых сторонах обмена фосфорных соединений в миокарде и скелетных мышцах при тиреотоксикозе.

Недавняя статья Тата и сотр. [5] является первой попыткой суммировать сведения о действии тиреоидных гормонов на клеточном уровне.

Несмотря на то, что фосфопротеины, возможно, участвуют в переносе фосфата в цепи окислительного фосфорилирования и в обмене АТФ [6], изменение их содержания при тиреотоксикозе детально не изучалось.

Мы поставили себе целью изучить содержание фосфопротеинов и активность фосфопротеинфосфатазы, а также содержание белков субклеточных фракций сердечной и скелетных мышц кроликов при тиреотоксикозе.

Методика. Опыты проводились на кроликах весом 1,5—2,5 кг. Гипертиреоз вызывался у животных ежедневным скармливанием тиреоидина, из расчета 0,5 г препарата на 1 кг веса животного в течение 3—4 недель [7].

Получение клеточных фракций (ядерно-миофибриллярной, миофибриллярной, тяжелых и легких митохондрий и надосадочной), определение в них содержания белков, фосфопротеинов и активности фосфопротеинфосфатазы проводилось по использованной нами ранее методике [8].

Полученные данные подвергались статистической обработке. Приведенные на рисунках величины являются средними из 5—9 опытов.

Результаты исследований. О значительных изменениях в содержании ФП сердечной и скелетных мышц свидетельствуют данные, приведенные в рис. 1 и 2. Уровень фосфора ФП в гомогенате сердечной мышцы после тиреоидиновой обработки увеличился с 19,6 до 37,3 мкг/г ткани. Количество фосфора ФП во всех субклеточных фракциях сердечной мышцы также оказалось больше, чем в контроле (рис. 1). Самые заметные изменения произошли в объединенной фракции микросом и гиалоплазмы («надосадочная фракция»), где содержание ФП увеличилось более чем в 3 раза: с 3,3 мкг до 10,5 мкг фосфора на г ткани.

Затем следуют митохондрии (от 1,9 мкг в норме до 4,5 при тиреотоксикозе для митохондрий I и от 1,5 мкг до 4,0—для II), миофибриллы (от 3,1 до 5,4) и ядерно-миофибриллярная фракция (от 9,3 до 12,7).

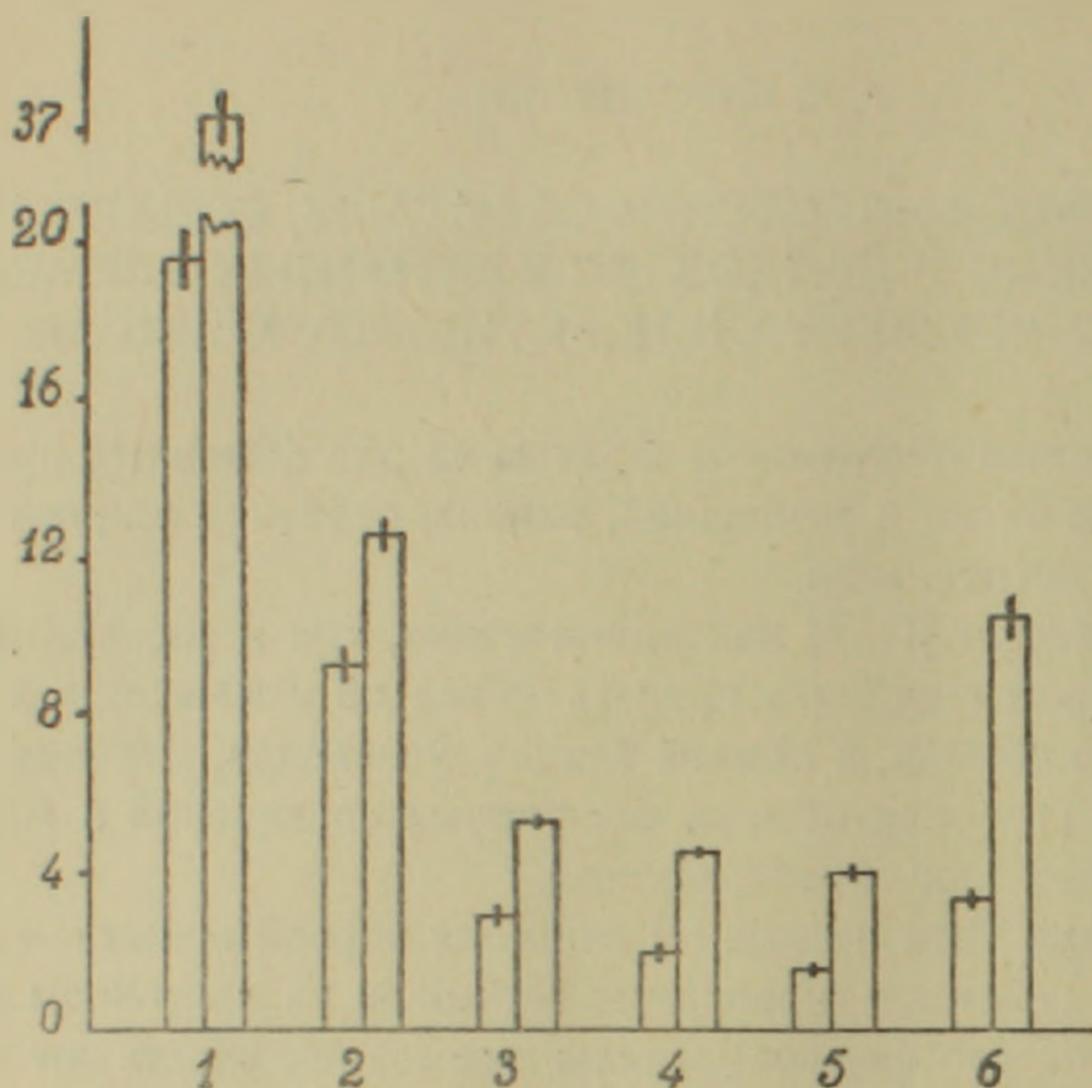


Рис. 1. Содержание фосфора фосфопротеинов в сердечной мышце кроликов при тиреотоксикозе. По вертикали: фосфор в мкг/г ткани. По горизонтали: 1) гомогенат ткани, 2) ядерно-миофибриллярная фракция, 3) миофибриллы, 4) митохондрии I, 5) митохондрии II, 6) надосадочная фракция. В каждой паре столбиков первый — норма, второй — тиреотоксикоз. Черные столбики — стандартная ошибка.

В скелетных мышцах (рис. 2) наблюдалась примерно такая же картина, как и в сердце. Отмечено увеличение содержания ФП как в целом гомогенате (от 13,6 мкг Р в норме до 28 при тиреотоксикозе), так и в отдельных клеточных фракциях. Особенно резкое увеличение — приблизительно в четыре раза — проявляется в надосадочной фракции и в митохондриях II. Фосфор ФП увеличивается соответственно с 3,1 мкг до 13,5 мкг/г ткани и с 0,78 до 3,2. В тяжелых митохондриях он увеличивается от 0,56 до 1,5, а в миофибриллах от 0,97 до 1,9. Не наблюдается изменений лишь в ядерно-миофибриллярной фракции. Тироксин, введенный *in vivo*, стимулирует также подъем в содержании ФП мозга [9]. Сорокин и Туракулов [10] сообщали об увеличении включения P^{32} во фракции нуклеиновых кислот и белка при гипертиреоидном состоянии. Приведенные данные говорят как об увеличении содержания, так и о повышении обменяемости фосфопротеинов при тиреотоксикозе в различных органах и тканях.

В настоящей работе мы определяли также активность фосфопротеинфосфатазы (ФПФ-азы) в условиях тиреоидного токсикоза.

Активность ФПФ-азы, рассчитанная в мкг отщепленного фосфора казеина на 1 мг белка (специфическая активность) [8], уменьшалась в сердечной мышце как в целом гомогенате, с 3,13 до 2,2, так и во всех

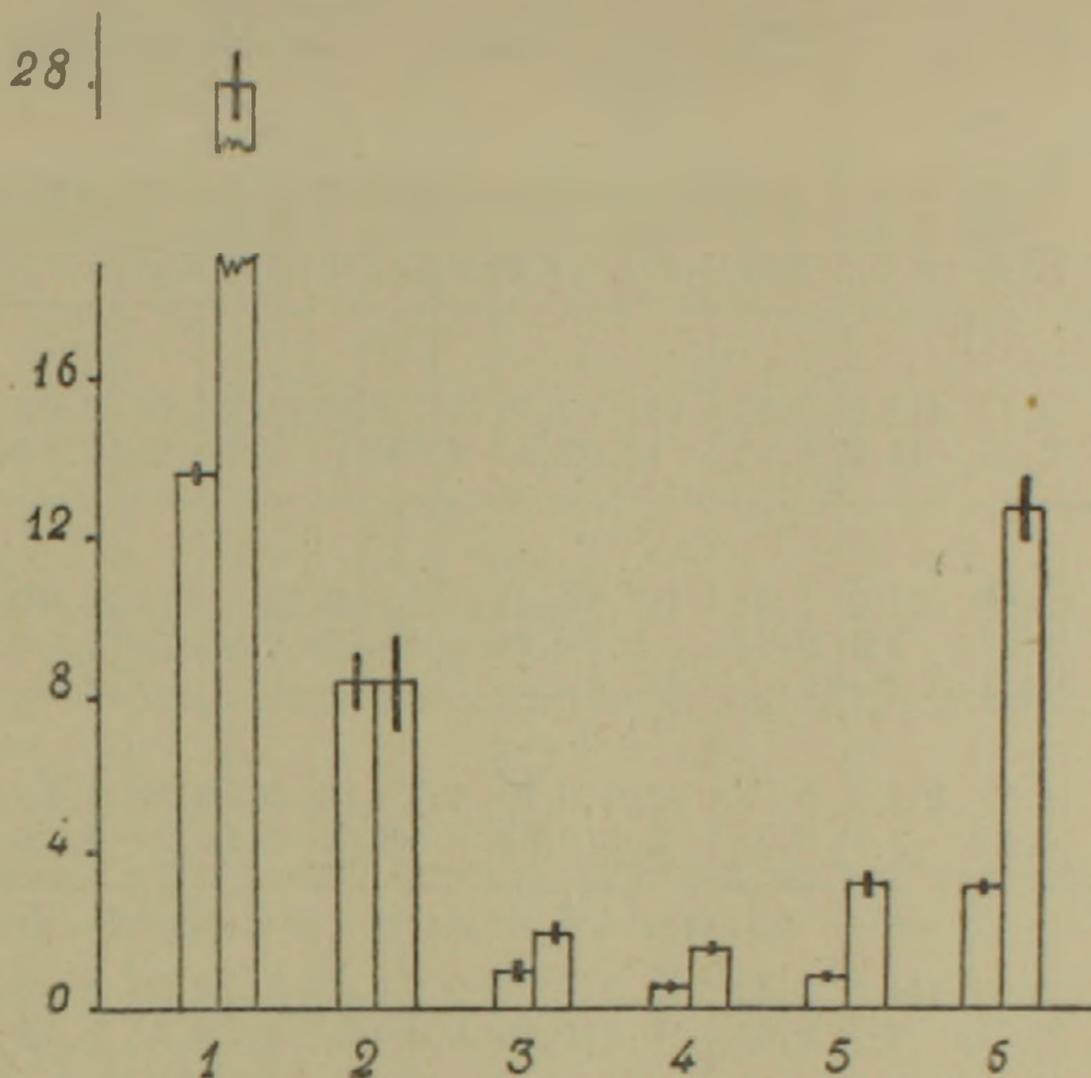


Рис. 2. Содержание фосфора фосфопротеинов в скелетной мышце кроликов при тиреотоксикозе. По вертикали: фосфор в мкг/г ткани. По горизонтали: см. рис. 1.

клеточных фракциях кроме миофибрилл, где было отмечено значительное ее увеличение (от 1,18 до 2,15), (табл. 1). Наиболее резкое уменьшение ее специфической активности отмечено в надосадочной (от 6,8 до 3,8) и ядерно-миофибриллярной (от 2,3 до 1,3) фракциях.

Несколько слабее выражены эти изменения в митохондриях I (2,95—2,38) и II (4,6—3,6) сердечной мышцы.

При расчете активности ФПФ-азы на грамм сырого веса направленность в изменении активности ФПФ-азы остается такой же, но различия между нормой и тиреотоксикозом несколько уменьшаются (табл. 1). Это объясняется некоторым увеличением количества белка в субклеточных элементах миокарда.

При рассмотрении изменений, происходящих в активности ФПФ-азы скелетных мышц (табл. 1), бросается в глаза сходство этих явлений с процессами, идущими в сердечной мышце. Так, специфическая активность в гомогенате ткани уменьшается с 1,0 до 0,6, снижается и активность различных фракций: ядер (от 0,8 до 0,4), тяжелых митохондрий (с 2,1 до 1,6) и надосадочной.

ФПФ-азная активность в миофибриллярной фракции скелетных мышц увеличивается от 0,4 до 0,8 мкг P/мг белка. Активность ФПФ-азы скелетной мышцы при расчете на 1 г ткани также показывает увеличе-

Таблица 1

Активность фосфопротеинфосфатазы в мышцах при тиреотоксикозе, мкг фосфора

Тип мышцы	Состояние	Гомогенат		Ядерно-миофибриллярная фракция		Миофибриллы		Митохондрии I		Митохондрии II		Надосадочная фракция	
		на мг белка	на г ткани	на мг белка	на г ткани	на мг белка	на г ткани	на мг белка	на г ткани	на мг белка	на г ткани	на мг белка	на г ткани
Сердечная М м±	норма	3,13	412,0	2,30	151,0	1,18	19,7	2,95	28,7	4,60	30,0	6,80	170,5
		0,06	13,3	0,14	13,0	0,14	4,3	0,15	2,9	0,45	2,5	0,11	10,6
Сердечная М м±	тиреотоксикоз	2,20	321,0	1,30	111,0	2,15	41,1	2,38	27,1	3,60	26,0	3,80	100,5
		0,03	5,5	0,04	6,7	0,14	5,1	0,20	2,9	0,29	2,5	0,24	7,8
Скелетная М м±	норма	1,03	162,0	0,81	72,6	0,40	4,7	2,10	5,4	3,30	4,2	2,70	75,6
		0,05	5,3	0,06	6,1	0,04	0,5	0,07	0,4	0,2	0,2	0,13	3,1
Скелетная М м±	тиреотоксикоз	0,68	111,0	0,42	41,0	0,77	9,9	1,60	5,3	3,50	4,2	2,28	52,4
		0,01	4,2	0,03	0,37	0,06	0,3	0,02	0,5	0,22	0,4	0,04	1,5

ние во фракции миофибрилл от 4,7 мкг фосфора в норме до 9,9 при тиреотоксикозе.

При неизменном уровне активности фермента в митохондриях, ФПФ-азная активность при таком расчете несомненно уменьшается в надосадочной (с 75,6 до 52,4) и ядерно-миофибриллярной (с 72,6 до 41,0) фракциях.

Приведенные данные об изменениях в количестве ФП и активности фермента ФПФ-азы в мышцах наряду со сведениями о снижении содержания макроэргических фосфорных соединений при тиреотоксикозе [11], говорят о серьезных нарушениях функции мышечных волокон и, по-видимому, являются биохимическим проявлением наблюдаемой при гипертиреозе миопатии.

Данные, приведенные на рис. 3 и 4, свидетельствуют об отсутствии значительных изменений в содержании белка субклеточных фракций в условиях развитого тиреотоксикоза.

Количество белка в гомогенатах мышц несколько увеличивается при тиреотоксикозе, составляя 149 мг/г ткани (при 129 мг/г ткани в норме) в сердечной мышце, и 165 мг/г ткани (при 153 в норме) в скелетных.

Некоторое повышение содержания белка проявляется в ядерно-миофибриллярной фракции: от 69 до 81 мг/г ткани для сердечной мышцы и от 88 до 95 для скелетных.

Незначительно увеличивается белок в миофибриллярной (от 19,3 до 20,0 мг/г ткани), тяжелой митохондральной (10,5—12,3), легкой митохондральной (5,0—6,0) и надосадочной (25,1—25,9) фракциях сердечной

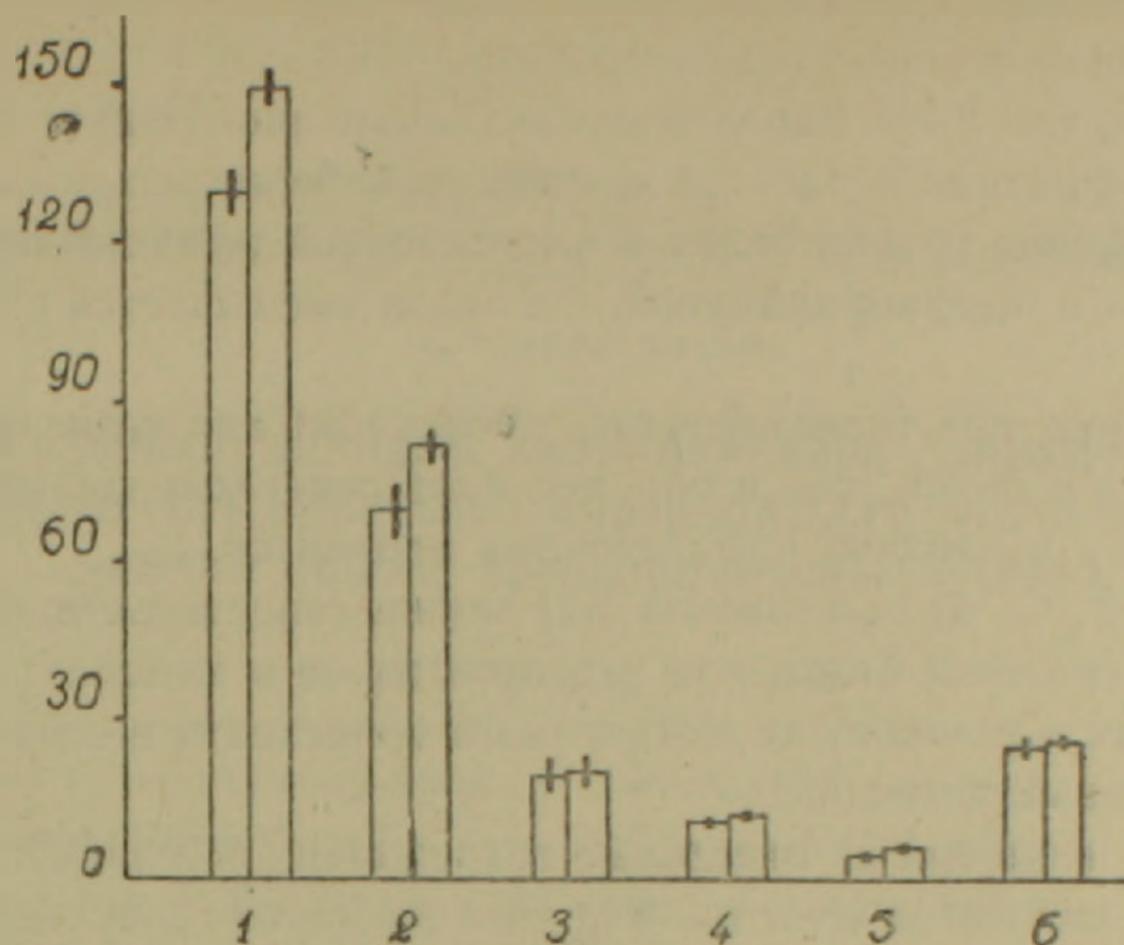


Рис 3 Содержание белка в сердечной мышце кроликов при тиреотоксикозе. По вертикали: белок в мг/г ткани. По горизонтали: см. рис. 1.

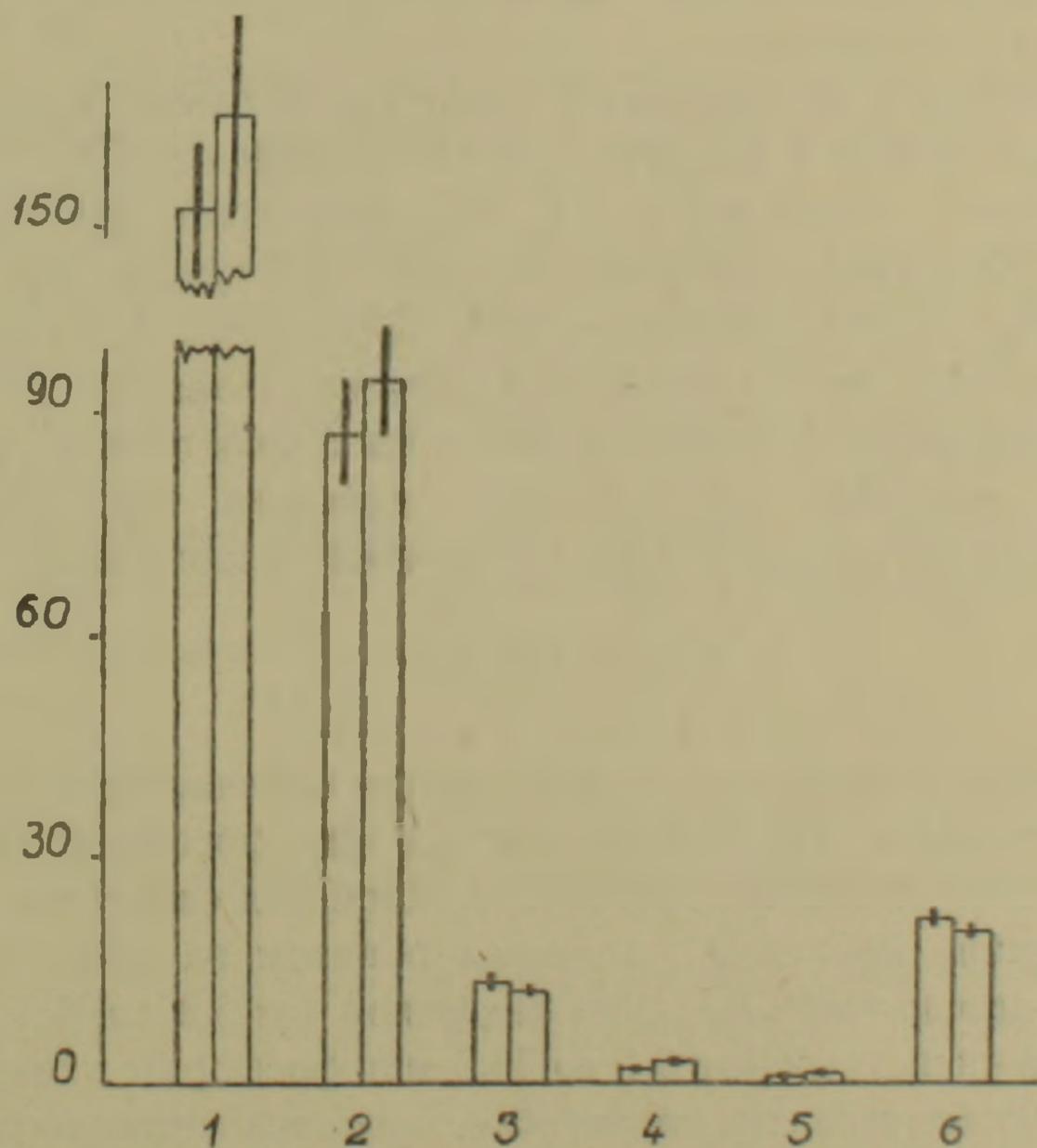


Рис. 4 Содержание белка в скелетной мышце кроликов при тиреотоксикозе. По вертикали: белок в мг/г ткани. По горизонтали: см. рис. 1.

мышцы и в тяжелых (2,5—3,4 мг/г) и легких (1,3—1,4) митохондриях скелетных мышц.

Как в норме, так и при тиреотоксикозе неизменно количество белка в надосадочной фракции сердечной мышцы, а в скелетных мышцах заметно даже снижение уровня белка в надосадочной фракции от 22,6 до 20,8 мг/г, а также в миофибриллярной, где белок уменьшается с 13,9 мг/г до 13,0.

Таким образом, при тиреотоксикозе происходит как незначительное увеличение белка в целом, так и определенное перераспределение в соотношении белков различных субклеточных элементов.

Сообщение З. С. Архангельской [11] также свидетельствует о стабильности в содержании белка при тиреотоксикозе в мышцах. Существенные изменения в условиях тиреотоксикоза происходят в соотношении различных белковых фракций.

Кроме того, несмотря на отдельные возражения, большинство авторов утверждает, что как *in vivo*, так и *in vitro* введение тироксина стимулирует увеличение скорости включения аминокислот в белки гомогенатов и отдельных субклеточных фракций ряда органов и тканей [12—14].

Увеличенная обмениваемость белков при сравнительно неизменном их содержании при тиреотоксикозе является следствием их усиленного протеолиза и ресинтеза.

Наши предыдущие исследования, говорящие о повышении содержания нуклеиновых кислот в мышцах при тиреотоксикозе [15], подтверждают это положение. Соколофф с сотр. [12] установили, что стимулирование тироксином синтеза белка локализовано на ступени, включающей перенос связанных с РНК аминокислот на микросомные белки.

Можно полагать, что дальнейшее изучение влияния тиреоидных гормонов на фосфорный и белковый обмен на субклеточном уровне позволит уточнить механизм и локализацию действия этих гормонов в клетках различных органов и тканей, в том числе и мышечной.

В ы в о д ы

1. В гомогенатах мышц при тиреотоксикозе отмечается значительное увеличение количества ФП (от 19,6 до 37,3 мкг фосфора/г ткани для сердечной и от 13,6 до 28,0 мкг фосфора/г ткани для скелетных мышц).

Это увеличение происходит главным образом за счет повышения уровня ФП в надосадочной фракции сердечной (от 3,3 до 10,5 мкг фосфора/г ткани) и скелетных (от 3,1 до 13,5 мкг фосфора/г ткани) мышц. Значительно поднимается содержание ФП также и в митохондриях I и II и миофибриллах.

2. Отмечено значительное уменьшение фосфопротеин-фосфатазной активности в различных клеточных фракциях и гомогенатах сердечной и скелетных мышц кроликов в условиях тиреотоксикоза. Исключение составляют миофибриллы, где гидролитическая активность изучаемого фермента увеличена почти вдвое.

3. Содержание белков как в гомогенатах, так и клеточных фракциях сердечной и скелетной мышц не претерпевает значительных изменений при тиреотоксикозе.

Институт биохимии
АН УССР, Киев

Поступило 10.IV 1964 г.

Գ. Կ. ՓԱՐՄԱԴԱՆՅԱՆ

ՖՈՍՖՈՊՐՈՏԵԻՆՖՈՍՖԱՏԱԶԱԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ, ՖՈՍՖՈՊՐՈՏԵԻՆՆԵՐԻ ԵՎ ԵՆԹԱԲՁՁԱՅԻՆ ԷԼԵՄԵՆՏՆԵՐԻ ՍՊԵՏԱԿՈՒՅՆԵՐԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ԷՔՍՊԵՐԻՄԵՆՏԱԿ ՏԻՐԵՈՏՈՔՍԻԿՈԶԻ ԴԵՊՔՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հոդվածում ուսումնասիրված է ճազարների սրտային ու կմախքային մկանների հոմոգենատներում և առանձին բջջային ֆրակցիաներում ընդհանուր սպիտակուցի և ֆոսֆոպրոտեինների պարունակությունը, ինչպես նաև ֆոսֆոպրոտեինֆոսֆատազայի ակտիվությունը նորմալում և տիրեոտոքսիկոզի դեպքում:

Հաստատված է, որ տիրեոիդինային տոքսիկոզի պայմաններում սպիտակուցների պարունակությունը սրտի և կմախքային մկաններում ավելանում է աննշան շափով:

Մշակված կենդանիների սրտի և կմախքային մկաններում ֆոսֆոպրոտեինների մակարդակն զգալիորեն ավելանում է և՛ հոմոգենատում, և՛ բոլոր բջջային ֆրակցիաներում:

Ֆոսֆոպրոտեինֆոսֆատազայի ակտիվությունը նշված մկանային հյուսվածքներում այս կամ այն շափով իջնում է ինչպես հոմոգենատներում, այնպես էլ համարյա բոլոր բջջային ֆրակցիաներում, բացի միոֆիբրիլներից, որտեղ այն տիրեոտոքսիկոզի դեպքում երկու անգամ բարձր է, քան նորմալ կենդանիների մոտ:

Հայտնաբերված փոփոխությունները քննարկված են մկանային հյուսվածքներում էքսպերիմենտալ տիրեոտոքսիկոզի ֆոսֆորային փոխանակության այլ խախտումների հետ կապված:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Самойлов П. М. *Вопр. мед. химии*, 7, 563, 1961.
2. Иванов И. И. и Юрьев В. А. *Биохимия и патобиохимия мышц*, Л., Медгиз, 1961.
3. Pitt-Rivers R., a. Tata J. R. *The Thyroid Hormones*, Pergamon Press, 1959.
4. Grapaldi G., Conte N., Avogaro P., Margo G. *Minerva Medica*, 54, 6, 148, 1962.
5. Tata J. R., Ernster L., et al., *Biochem. J.*, 86, 408, 1963.
6. Ahmed K. a. Judah J. D. *Biochim. Biophys. Acta*, 71, 295, 1963.
7. Парсаданян Г. К. *Укр. биох. журн*, 36, 373, 1964.
8. Парсаданян Г. К. *Укр. биох. журн*, в печати.
9. Potop J., Ciocirdia C., Juvina E., Serban Al. *Stud. Cercet. Endocrinol.*, 12, 245, 1961.
10. Сорокин В. М. и Туракулов Я. Х. *Тр. Ташкентской конфер. по мирному использованию ат. энергии*, т. 3, 156, Ташкент, 1961.

11. Архангельская З. С. Автореферат канд. дисс. Киев, 1957.
12. Sokoloff L., Kautman S., et al., J. Biol. Chem., 238, 1432, 1963.
13. Stein O, Gross J., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 109, 817, 1962.
14. Michels R., Cason J., Sokoloff L. Federat. Proc., 22, 2, p. 1, 563, 1963.
15. Парсаданян Г. К. Сб. Первая научная конф. молодых ученых биологов, Тез. докл., Киев, 1964.