

Г. В. КАМАЛЯН, М. Г. ГАСПАРЯН, Э. Я. БАБИНА

ВЛИЯНИЕ О-АЦЕТИЛЭТАНОЛАМИНА НА ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ

Дыхательное (окислительное) фосфорилирование, в основе которого лежит образование АТФ, впервые открытое Энгельгардтом [7, 8], является наиболее эффективным и мощным генератором энергии по сравнению с гликолизом. Окисление пирувата, α -кетоглутарата, фумарата, глутамата осуществляется ферментами, локализованными в митохондриях и составляющими структурную часть самих митохондриальных мембран. Окисление глутамата, дегидрогеназа которой сосредоточена во внутренней зоне митохондрий, осуществляется по фосфорилирующему пути, окисление же таких субстратов, как сукцинат, протекает обоими путями и поэтому легко переключается с фосфорилирующего пути на нефосфорилирующий [6, 9, 11].

В вопросе регуляции потока электронов между фосфорилирующим и нефосфорилирующим окислением, отражением которой является величина P/O , имеется много толкований [5]. Известны многочисленные примеры, когда система с меньшей величиной P/O продуцирует большее количество АТФ, чем система с большим P/O [4, 10].

Работы по изучению влияния моноэтаноламина на дыхательное фосфорилирование показали, что этот амин несколько повышает потребление кислорода и значительно увеличивает количество эстерифицированного неорганического фосфата и образование АТФ. Количество последнего максимально повышается на 30—45-й мин. после введения препарата. Показано также изменение активности АТФ-фосфогидролазы, физического состояния митохондрий, количественные изменения отдельных фосфолипидов и, что особенно интересно, повышение инозитолфосфатида [1, 2].

В связи с вышеизложенным представляло большой интерес выяснить влияние О-ацетилпроизводного моноэтаноламина на дыхание и окислительное фосфорилирование при различных субстратах на гомогенатах печеночной ткани. Для сравнения опыты ставились также с моноэтаноламином.

Опыты были поставлены на белых крысах весом 100—120 г. Исследования велись в двух сериях. В первой серии опытов в качестве субстрата дыхания был использован сукцинат, во второй серии — глутамат. Моноэтаноламин вводился в дозе 10 мг/кг, О-ацетилэтанолламин — в дозе 17 мг/кг, являющейся эквивалентной указанной дозе моноэтаноламина. Оба препарата вводились внутрибрюшинно. Животные обезглавливались через 30 и 60 мин. после введения препаратов. Гомогенаты печени были приготовлены в электрическом гомогенизаторе. Среда для гомоген-

низации включала следующие компоненты: $MgCl_2$ —40 μM , KCl —80 μM , K_2HPO_4 —80 μM . Полученный гомогенат сразу же инкубировали, предварительно добавив АТФ (4,2 мг), акцепторную систему «гексокиназа + глюкоза» (0,6 мг + 36 мг) и субстрат дыхания — сукцинат либо глутамат (50 μM). Общий объем питательной среды 3 мл. Конечный pH—7,4. За дыханием ткани следили в респирометрах Варбурга при температуре 37° в течение 45 мин. Газовой фазой был воздух. В кислоторастворимой фракции, которую получали путем добавления к гомогенату до и после инкубации 3 мл 10%-ной трихлоруксусной кислоты, определяли количество неорганического фосфора по методу Фиске — Суббароу. Разницу в количестве фосфата до и после инкубации составлял эстерифицированный неорганический фосфат. По количеству поглощенного кислорода и эстерифицированного неорганического фосфата судили о величине P/O. Навеска ткани—500 мг.

Таблица 1

Поглощение кислорода (в микролитрах) печеночной тканью крыс под действием моноэтаноламина и О-ацетилэтаноламина

Субстрат	Контроль	Время забоя после инъекции	Моноэтаноламин	О-ацетилэтаноламин
Сукцинат	413,9 (6)*	30 мин.	409,66 (4)	333,45 (4)
		60 мин.	435,76 (4)	321,78 (4)
Глутамат	215,31 (8)	30 мин.	236,85 (4)	274,17 (4)
		60 мин.	217,71 (4)	244,08 (4)

* В скобках приводится число животных в опыте.

Результаты наших опытов, приведенные в табл. 1, показывают, что количество кислорода, поглощаемого тканью печени интактных животных при различных субстратах, неодинаково. При добавлении сукцината процесс потребления кислорода идет более интенсивно и превышает почти в два раза потребление кислорода при глутамате. Введение крысам моноэтаноламина не вызывает существенных изменений в поглощении кислорода печеночной тканью. Наблюдаемые сдвиги в потреблении кислорода как при сукцинате через 60 мин., так и глутамате через 30 и 60 мин. после введения препарата имеют некоторую тенденцию к увеличению. Под действием О-ацетилэтаноламина отмечается снижение количества поглощенного кислорода тканью в сукцинате, а в глутамате, наоборот, — увеличение, особенно выраженное через 30 мин.

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что количество эстерифицированного неорганического фосфата в печени значительно увеличивается под действием изученных нами аминов. Интересно отметить, что в глутамате содержание фосфата у интактных животных выше, чем в сукцинате. Это объясняется тем, что окисление глутамата в основном

Таблица 2

Количество эстерифицированного фосфата (в мг на 500 мг свежей ткани)
в печени крыс под действием моноэтаноламина и О-ацетилэтаноламина

Субстрат	Контроль	Время забоя после инъекции	Моноэтаноламин	О-ацетилэтаноламин
Сукцинат	0,584 (6)	30 мин.	0,764 (4)	0,855 (4)
		60 мин.	0,618 (4)	0,691 (4)
Глутамат	0,743 (8)	30 мин.	0,828 (4)	0,771 (4)
		60 мин.	0,579 (4)	0,818 (4)

осуществляется по фосфорилирующему пути. У животных, которым вводился моноэтаноламин, наибольшее увеличение эстерифицированного фосфата и при сукцинате, и при глутамате наблюдается через 30 мин., к 60 мин. количество фосфата при сукцинате уменьшается, но по сравнению с контролем все же несколько сохраняет превышение, а при глутамате — падает ниже нормы. Под действием О-ацетилэтаноламина при сукцинате резко возрастает количество фосфата к 30 мин. по сравнению с контролем и действием моноэтаноламина, а через 60 мин., хотя и уменьшается, но все же норму превышает, как и в опытах с моноэтаноламином. При глутамате наблюдается несколько иная картина по сравнению с действием моноэтаноламина. К 30 мин. отмечается некоторое увеличение содержания фосфата, которое через 60 мин. после введения препарата не уменьшается, а, наоборот, достигает наибольшей величины.

Мерой фосфорилирования при тканевом дыхании является отношение Р/О. Как видно из рис. 1, отражающего окислительное фосфорилирование в субстрате сукцината, введение крысам моноэтаноламина увеличивает Р/О к 30 мин. за счет увеличения количества эстерифицированного фосфата, а к 60 мин. величина Р/О уменьшается, хотя и превышает норму. По всей вероятности, здесь имеет место разобщение дыхания и фосфорилирования. Под действием О-ацетилэтаноламина отношение Р/О значительно увеличивается по сравнению с контролем и действием моноэтаноламина. Особенно это увеличение хорошо выражено через 30 мин. после введения препарата.

Как показывают данные рис. 2, отражающего окислительное фосфорилирование в субстрате глутамата, величина Р/О у интактных крыс (контроль) более чем в два раза выше, чем в сукцинате. Это объясняется тем, что в глутамате уровень поглощения кислорода почти в два раза ниже по сравнению с сукцинатом, при котором окисление легко переключается с фосфорилирующего пути на нефосфорилирующий [3, 6].

Под действием моноэтаноламина и О-ацетилэтаноламина изменения величины Р/О носят иной характер. Хотя у крыс, которым вводился моноэтаноламин, величина Р/О выше, чем в сукцинате, по сравнению с контролем наблюдается некоторое уменьшение к 60 мин. после введения препарата. Под действием О-ацетилэтаноламина через 30 мин. имеет

место понижение, а через 60 мин. — повышение Р/О. В данном случае под действием моноэтаноламина сопряжение окисления и фосфорилирования наиболее выражено через 30 мин., а под действием О-ацетилэтанолamina сопряжение наблюдается через 30 и 60 мин.

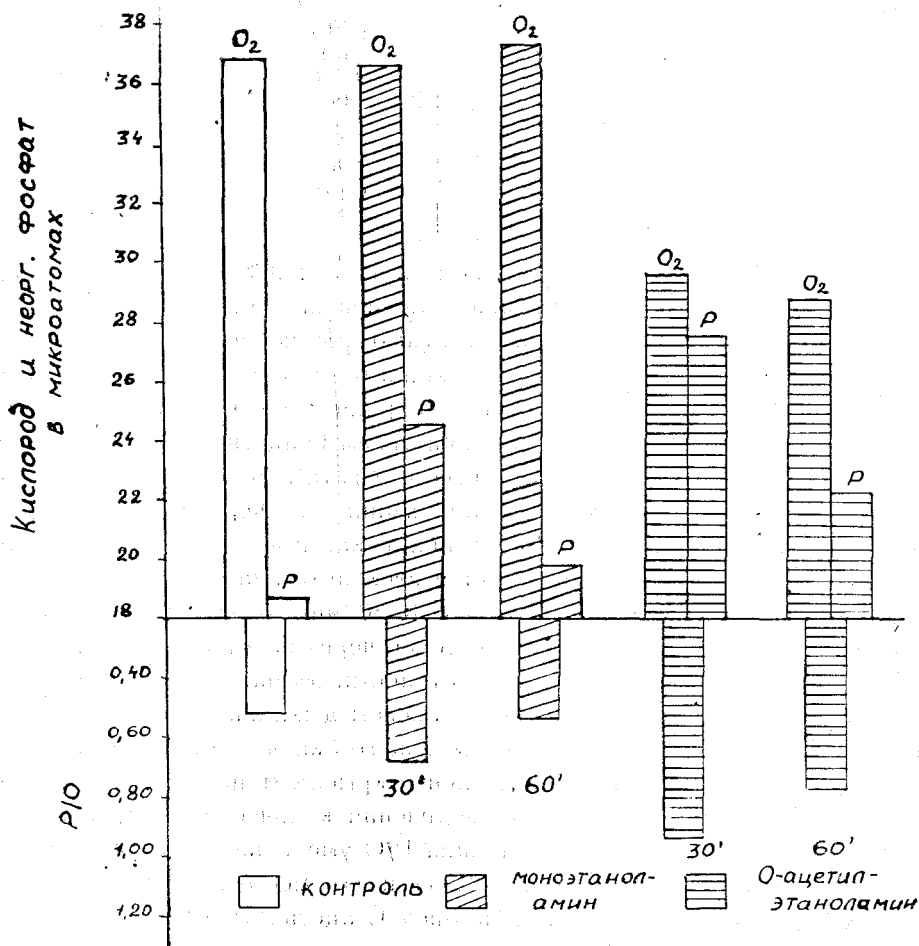


Рис. 1. Окислительное фосфорилирование под действием моноэтаноламина и О-ацетилэтанолamina. Субстрат сукцината.

В отношении действия О-ацетилэтанолamina подтверждаются некоторые литературные данные о том, что система с меньшей величиной Р/О может продуцировать большее количество АТФ, нежели система с большим Р/О. Повышение количества эстерифицированного фосфата и поглощенного кислорода по сравнению с контролем при более низких Р/О говорят о том, что выражение фосфорилирования через Р/О нельзя считать единственным, а точнее, в данном случае выразить через величину АДР/О.

Повышение Р/О в сукцинате под действием моноэтаноламина тесно связано с увеличением эстерифицированного неорганического фосфата, увеличением АТФ, повышением оптической плотности митохондрий, показанными в наших предыдущих работах [1, 2].

Сдвиги в окислительном фосфорилировании под действием О-ацетилэтанолamina, как показывают данные наших опытов, обусловлены значительным увеличением количества эстерифицированного фосфата. Можно полагать, что моноэтанолamin связывается с ацетилкоэнзимом А с образованием О-ацетилэтанолamina, который имеет более высокий

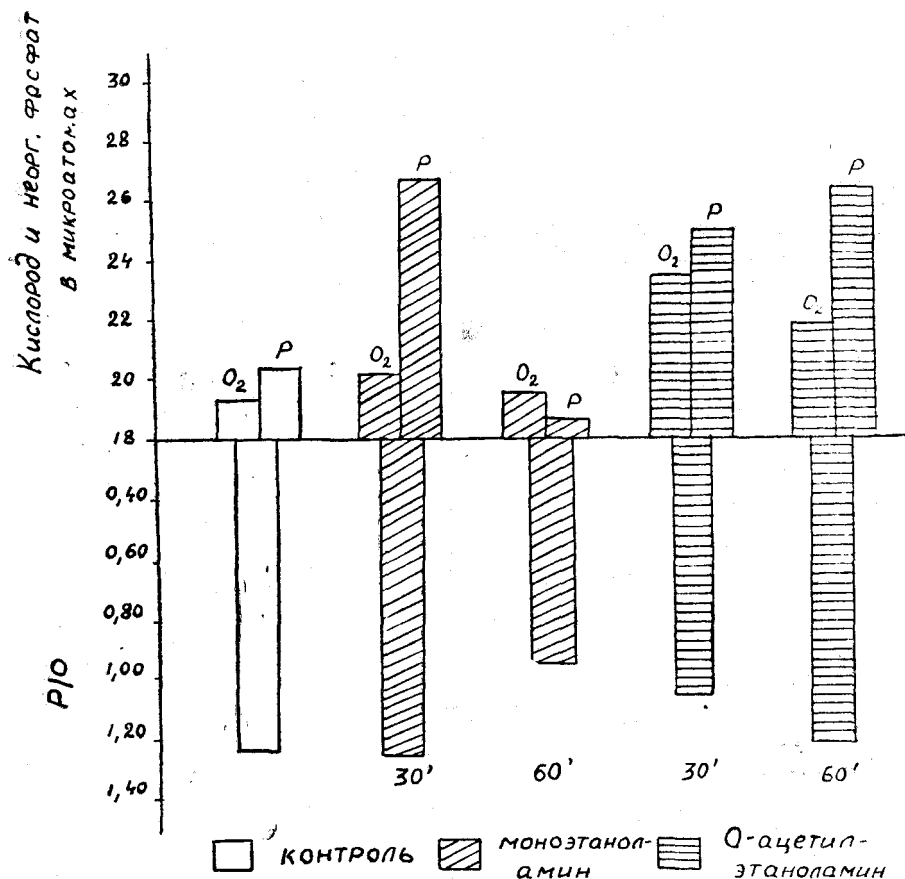


Рис. 2. Окислительное фосфорилирование под действием моноэтанолamina и О-ацетилэтанолamina. Субстрат глутамата.

потенциал действия. А данные опытов М. Г. Гаспарян показывают, что под действием моноэтанолamina ацетилирующая способность тканей повышается.

В ы в о д ы

1. Введение моноэтанолamina крысам вызывает тенденцию к увеличению поглощения кислорода печеночной тканью как в сукцинате, так и глутамате.

2. Под действием О-ацетилэтанолamina наблюдается уменьшение количества поглощенного кислорода в сукцинате и увеличение—в глутамате.

3. Введение моноэтаноламина вызывает увеличение количества эстерифицированного фосфата как в сукцинате, так и в глутамате через 30 мин. после введения препарата.

4. Под действием О-ацетилэтаноламина наибольшее увеличение количества эстерифицированного фосфата наблюдается в сукцинате через 30 мин., в глутамате—через 60 мин.

5. Введение моноэтаноламина вызывает увеличение величины Р/О как в сукцинате, так и в глутамате через 30 мин.

6. Под действием О-ацетилэтаноламина в сукцинате наибольшее увеличение Р/О имеет место через 30 мин., в глутамате величина Р/О понижена.

Ереванский зооветеринарный институт,
кафедра биохимии

Поступило 4.IV. 1967 г..

Գ. Վ. ՔԱՄԱԼՅԱՆ, Մ. Գ. ԳԱՍՊԱՐՅԱՆ, Է. ՅԱ. ԲԱԲԻՆԱ

Օ-ԱՑԵՏԻԼԷԹԱՆՈԼԱՄԻՆԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՕՔՍԻԴԱՑԻՈՆ ՖՈՍՖՈՐԻԼԱՑՄԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Մեր հետազոտության նպատակն է եղել պարզել Օ-ացետիլ-էթանոլամինի ազդեցությունը շնչառության և օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացման վրա լյարդի հոմոգենատում: Համեմատության համար փորձեր են դրվել նաև մոնոէթանոլամինի հետ:

Փորձերը դրվել են սպիտակ առնետների վրա, կենդանիները մորթվել են պրեպարատների ներորովայնային ներարկումից 30 և 60 րոպե հետո:

Մեր փորձերի արդյունքները ցույց տվեցին, որ Օ-ացետիլ-էթանոլամինի ազդեցությունից պակասում է թթվածնի կլանումը սուլցինատի առկայությամբ, իսկ գլուտամատի դեպքում, ընդհակառակը, ավելանում է: Բացի այդ, նկատվում է էսթերիֆիկացիայի ենթարկված ֆոսֆորի քանակի ավելացում, որը սուլցինատում հասնում է մաքսիմումի 30 րոպեից, գլուտամատում՝ 60 րոպեից:

Ր/Օ մեծությունը հանդիսանալով ֆոսֆորիլացման չափանիշ, սուլցինատի դեպքում բարձրանում է, իսկ գլուտամատի՝ փոքրանում:

Օ-ացետիլ-էթանոլամինի ազդեցությունից առաջացած փոփոխությունները մոնոէթանոլամինի ազդեցությունից առաջացած փոփոխություններից համարյա չեն տարբերվում:

Կարելի է ենթադրել, որ մոնոէթանոլամինը կապվում է ացետիլ-KOA-ի հետ, առաջացնելով Օ-ացետիլ-էթանոլամին, որն ունի ազդեցության բարձր պոտենցիալ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гаспарян М. Г., Канаян Л. Р., Аракелян Ф. Р., Овсепян Л. Материалы II Всесоюз. конф. биохим. с/х вузов, 29—30, Ереван, 1966.
2. Гаспарян М. Г. I Всесоюз. биохим. съезд (тез. докл.), вып. 2, 42, М.—Л., 1963.
3. Ланг К. Современные проблемы цитологии, 149, ИЛ, М., 1955.
4. Скулачев В. П. Тр. V МБК, V симпоз., 21—27, М., 1962.
5. Чанс Б., Хаджихара Б. Тр. V МБК, V симпоз., 3—28, М., 1962.
6. Шнейдер В. Проблемы цитофизиологии, 17, ИЛ, М., 1957.
7. Энгельгардт В. А. Казанский медиц. журн., 27, 496, 1931.
8. Энгельгардт В. А. Biochem. zeitschr., 227, 16—38, 1930.
9. Bedall D. S., De-Duve C. Biochem. J., 74, 444, 1960.
10. Holton F. A., Hülsman N. C., Meyers D. K., Slater E. C. Biochem. J., 67, 579, 1957.
11. Murray W. C., Maley G. F., Lardy H. A. J. Biol. Chem., 230, 219, 1958.