

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО ПОЛЯ НА АКТИВНОСТЬ
НЕКОТОРЫХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ

С. Л. МКРТЧЯН

Исследовалась активность ферментов и интермедиатов дыхательной цепи митохондрий печени крыс после воздействия электростатического поля. Показано снижение активности сукцинатдегидрогеназы и сукцинат-цитохром-с-редуктазы, активирование цитохромоксидазы после суточной и недельной экспозиций и сукцинатдегидрогеназы—после часовой. Проводится сравнительный анализ полученных результатов и данных полярографического исследования. Обсуждается роль гипероксии, возникающей в тканях вследствие влияния электростатического поля, в механизме описанных изменений, а также возможность непосредственного действия поля на молекулы ферментов.

Электростатическое поле (ЭСП), как известно, влияет на снабжение тканей кислородом и энергетический баланс организма [1, 2]. В предыдущем сообщении [3] нами были показаны довольно значительные сдвиги в поглощении кислорода в митохондриях печени крыс, помещенных в ЭСП. Цель настоящей работы заключалась в более глубоком изучении этих изменений путем определения активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ), сукцинат-цитохром-с-редуктазы и цитохромоксидазы (ЦО) после воздействия ЭСП. По активности этих митохондриальных ферментов можно в определенной степени судить о совокупной работе участка дыхательной цепи, транспортирующего электроны от сукцината к кислороду.

Материал и методика. Опыты проводились на белых беспородных крысах-самцах весом 150—180 г. Электростатическое поле напряженностью 2000 в/см создавалось при помощи установки конденсаторного типа со строго регулируемыи электрическими параметрами [4]. Исследовали влияние трех экспозиций ЭСП: часовой, суточной и недельной (по 6 час. в сутки). Животных забивали непосредственно после воздействия ЭСП, через 1, 4, 7, 14 суток. Митохондрии печени крыс извлекали по известной методике Шнейдера [5]. Сукцинатдегидрогеназную активность определяли спектрофотометрически по изменению экстинкции искусственного акцептора электронов 2,6-дихлорфенолиндолфенсла при 600 нм. В качестве промежуточного переносчика электронов использовали феназинметасульфат [6]. Измерение активности сукцинат-цитохром-с-редуктазы проводили по методике Кинга [7], также с использованием 2,6-дихлорфенолиндолфенола как искусственного акцептора электронов. Цитохромоксидазную активность определяли спектрофотометрически по изменению окраски диметил-гарафенилендиамина при окислении его цитохромом С при длине волны 510 нм [8]. Методика была подвергнута нами небольшой модификации. Активность СДГ и сукцинат-цитохром-с-редуктазы выражали в нмолях окисленного сукцината в минуту на мг белка (50—100 γ белка в пробе, определяемого по методу Лоури). Цитохром-

оксидазную активность выражали в нмольх окисленного диметилпарафенилендиамина в минуту на мг белка (20—30 μ в пробе). Измерения проводили при 25° на регистрирующем спектрофотометре Specord (ГДР).

Результаты и обсуждение. Сравнительно небольшие изменения активности исследуемых ферментов наблюдались после одночасовой экспозиции ЭСП (рис. 1). Так, активность СДГ резко увеличивалась непосредственно после воздействия ЭСП, сохранялась примерно на таком же уровне через сутки, а в остальные сроки исследования ока-

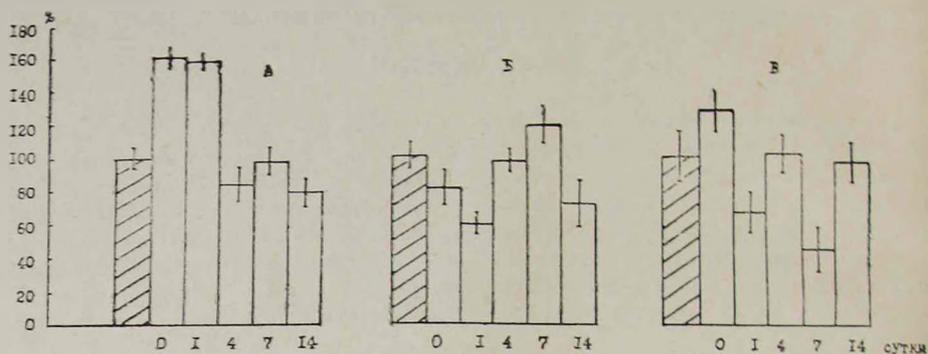


Рис. 1. Активность митохондриальных ферментов после воздействия ЭСП длительностью 1 час. А—сукцинатдегидрогеназа; Б—сукцинат-цитохром-с-редуктаза; В—цитохромоксидаза. Заштрихованные столбики—контроль.

зывалась на уровне контроля. Активность других ферментов почти не изменялась, за исключением активности сукцинат-цитохром-с-редуктазы, которая через сутки снижалась.

На рис. 2 представлены данные о ферментативной активности после суточного воздействия ЭСП. Интересно отметить, что наблюдае-

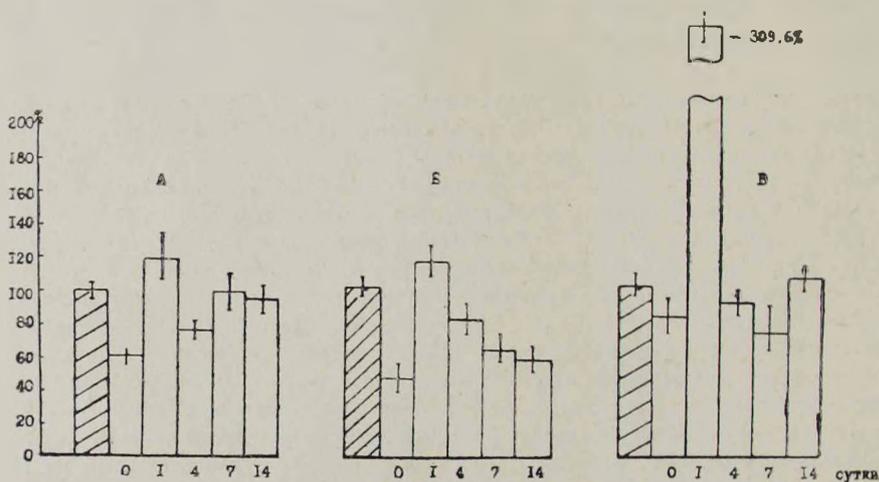


Рис. 2. Экспозиция ЭСП—1 сутки. Обозначения те же, что и на рис. 1.

мое снижение СДГ-азной и сукцинат-цитохром-с-редуктазной активности почти во все сроки исследования хорошо коррелировало с уменьшением скорости дыхания, увеличением времени фосфорилирования, отмеченными нами в предыдущем сообщении при такой же экспозиции ЭСП [3]. Однако здесь надо отметить труднообъяснимый скачок активности ЦО через сутки, в то время как активность остальных ферментов мало чем отличалась от контроля.

Результаты, полученные после недельной экспозиции поля (рис. 3), в основном совпадают с данными, выявленными после суточной экспозиции. Однако и здесь отмечалось довольно сильное увеличение активности ЦО, правда, на 4-е сутки.

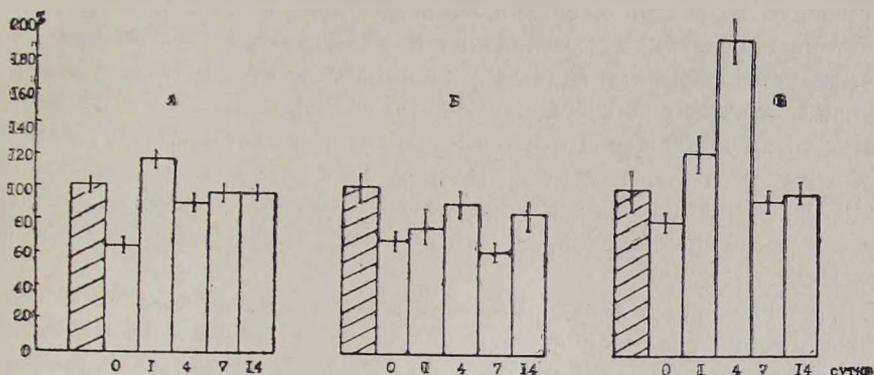


Рис. 3. Экспозиция ЭСП—1 неделя (по 6 час. в сутки). Обозначения те же, что и на рис. 1.

Согласно Прингу и Чансу, соотношение активированной и неактивированной форм дыхательной цепи контролируется концентрацией кислорода в среде [9]. Причем, как было показано, в начальной фазе действия пониженных концентраций кислорода на митохондрии происходит, как правило, активирование дыхательной цепи [10]. С другой стороны, известно, что гипероксия оказывает токсическое действие на терминальное окисление, что выражается в его угнетении [11].

В модели, предложенной Куприяновым с сотр., активация дыхательной цепи происходит при ускорении транспорта электронов [12]. Очевидно, снижение скорости дыхания, обусловленное повышением концентрации кислорода после воздействия ЭСП, должно сопровождаться инактивированием интермедиатов цепи терминального окисления, что и наблюдалось в наших экспериментах (за исключением изменения активности ЦО).

Однако не исключено и альтернативное предположение о первичности нарушения ферментативной функции в процессе угнетения тканевого дыхания. Эти нарушения, возможно, являются результатом структурных изменений, вызванных непосредственным действием ЭСП на

молекулы этих ферментов. Принципиальная возможность появления конформационных сдвигов в макромолекулах после воздействия ЭСП была показана в ряде работ [13, 14]. Согласно схеме Гавриковой и Виноградова [15], в активировании СДГ большую роль играют электростатические взаимодействия между отдельными заряженными группами молекулы. Причем здесь весьма важна локализация этих группировок, т. е. конформационные изменения могут повлечь за собой изменение активности фермента. Существенна роль структурных сдвигов и в функционировании других компонентов дыхательной цепи. Так, по гипотезе Кинга [16], перенос электронов сопровождается конформационными изменениями молекул переносчиков цепи. Предложенный ранее механизм действия ЭСП на биообъекты [14] предполагает именно нарушение структурной организации молекул, очевидно, в результате действия определенных поляризационных эффектов. А так как исследуемые нами ферменты являются крупными биомолекулами, активация которых реализуется в основном через электростатические взаимодействия, то предположение о непосредственном влиянии на них ЭСП, по видимому, не лишено смысла. Однако если результаты экспериментов с СДГ и сукцинат-цитохром-с-редуктазой можно интерпретировать в свете этих предположений, то это довольно трудно сделать в отношении ЦО.

Сравнительно недавно было показано, что после воздействия ЭСП на гемоглобин в нем происходит разрыхление белковой части молекулы. Увеличение вследствие этого объема всей молекулы приводит к сближению субъединиц гемоглобина—стабилизации гем-глобиновой связи, что в свою очередь вызывает упрочение связи кислорода с молекулой гемоглобина [13]. Цитохромоксидаза же, как известно, также является гемсодержащим белком (при наличии, конечно, ряда отличий от молекулы гемоглобина). Механизм взаимодействия ЦО с O_2 не идентичен с механизмом связывания кислорода с гемоглобином, однако, согласно данным Чанса, в процессе терминального восстановления O_2 промежуточной стадией является образование соединения, напоминающего оксигемоглобин. Если это так, то ЭСП может несколько «задерживать» кислород в таком соединении (как и в гемоглобине), и скорость всей цепи окисления должна, таким образом, лимитироваться, что и отмечается при полярографическом исследовании. Однако ЦО является ферментом с довольно высокой адаптивной способностью, и поддержание его активности в пределах нормы, а иногда и значительно выше, можно, очевидно, объяснить определенным компенсаторным эффектом.

В заключение следует отметить, что все сказанное относится к результатам суточной и недельной экспозиций поля. При часовой экспозиции заметно изменялась лишь активность СДГ. Сопоставление этих данных с незначительными величинами скорости дыхания при той же экспозиции и тенденцией к разобщению дыхания и фосфорилирования приводит к мысли, что активирование СДГ является необходимым зве-

ном в известном процессе перехода рыхло-сопряженных митохондрий в состояние свободного окисления.

Ереванский государственный медицинский институт,
кафедра биохимии, лаборатория биофизики ЦНИЛ

Поступило 7.VI 1978 г.

ԷԼԵԿՏՐՍՏԱՏԻԿ ԴԱՇՏԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՐՈՇ ՇՆՋԱՌԱԿԱՆ ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ս. Լ. ՄԿՐՏՉՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է առնետների լյարդի միտոքոնդրիանների տերմինալ օքսիդացման շղթայի ֆերմենտների և ինթերմեդիանտների ակտիվությունը՝ էլեկտրաստատիկ դաշտի ազդեցությունից հետո:

Ցույց է տրված սուկցինատ դեհիդրոգենազայի և սուկցինատցիտոքրոմ-
-C-րեդուկտազայի ակտիվության անկում՝ դաշտի 24 ժամյա և 6 օրյա ազ-
դեցությունից հետո և սուկցինատդեհիդրոգենազայի ակտիվացումը՝ 1 ժամյա
էքսպոզիցիայի դեպքում:

Առաջին երկու էքսպոզիցիաների դեպքում նկատվում է ցիտոքրոմօքսի-
դազայի ակտիվության մեծացում:

Տրվում է ստացված տվյալների և սյուլաբորաֆիկ հետազոտություննե-
րի արդյունքների համեմատական վերլուծությունը: Քննվում է էլեկտրաստա-
տիկ դաշտի ազդեցության տակ չլուսվածքներում առաջացած հիպերօքսիայի
հնարավոր դերը վերոհիշյալ փոփոխությունների մեխանիզմում, ինչպես նաև
դաշտի անմիջական ազդեցության հնարավորությունը ֆերմենտների մոլե-
կուլների վրա:

EFFECT OF ELECTROSTATIC FIELD ON THE ACTIVITY OF SOME RESPIRATORY ENZYMES

S. L. MKRTCHYAN

Rat liver mitochondrial enzyme and terminal oxidation intermediate activity after electrostatic field's (ESF) action have been studied. It was shown, that the activity of succinate dehydrogenase and succinate-cytochrome C reductase decreases after a daily and weekly ESF expositions and succinate dehydrogenase activity increases after one hour exposition to ESF. First two expositions caused the cytochromoxidase single activations. The comparative analysis of received data and results of polarographic investigations have been carried out. The possible role of the ESF induced hyperoxia in tissues and ESF effecton the enzyme molecules have been discussed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Schreinicke A. Zehr. gen. Hyg., 16, 7, 519, 1970.
2. Mose J. R., Fisher G. Arch. Hyg., 154, 6, 549, 1971.

3. Мкртчян С. Л., Арцруни Г. Г. Биолог. ж. Армении. 31, 7, 1978.
4. Арцруни Г. Г. Мат-лы научн. конф. мол. уч., посв. XXV съезду КПСС, 32. Ереван, 1975.
5. Schneider W. C. J. Biol. Chem., 176, 259, 1948.
6. King T. S. Meth. in Enzym., 10, 259, 1967.
7. King T. S. Meth. in Enzym., 10, 322, 1967.
8. Кривченкова Р. С. Совр. методы в биохимии. 47. М., 1977.
9. Chance B., Pring M. 19 Colloq. Ges. Bid. Chemie. Mösbach/Baden, 102, 1968.
10. Хватова Е. М., Шуматова Е. Н., Варыпаева И. С. Сб. Митохондрии, 32. М., 1977.
11. Елисеева С. В., Котова Е. Н., Кондрашова М. Н. Сб. Митохондрии, 122. М., 1971.
12. Куприянов В. В., Сакс В. А., Лузиков В. Н. Сб. Митохондрии. 21. М., 1974.
13. Арцруни Г. Г. Канд. дисс., М., 1973.
14. Hill T. L. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 58, 111, 1968.
15. Гаврикова В. В., Виноградсв А. Д. Сб. Митохондрии, 57, М., 1976.
16. King T. E., Kubojama M., Takemuri S. Oxidases and related redox systems, 2, 707, N. Y., 1965.