

УДК 577.15

СТРУКТУРА И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ КРЕАТИНКИНАЗЫ. I

Л. С. НЕРСЕСОВА, Ж. И. АКОПЯН

Обсуждаются собственный экспериментальный материал и литературные данные последних лет, касающиеся молекулярных механизмов действия креатинкиназы и структурной организации этого фермента.

Ключевые слова: креатинкиназа, структура и механизм действия, регуляция активности, ферменты.

Креатинкиназа (АТР-креатин: фосфотрансфераза, КФ 2.7.3.2) катализирует обратимый перенос фосфорильной группы с креатинфосфата (КФ) на АДР. Основная функция креатинфосфат-креатинкиназной системы состоит в поддержании постоянного уровня АТР в клетке. Данные ряда недавно опубликованных работ свидетельствуют о наличии взаимосвязи между креатинфосфат-креатинкиназой системой и основными биоэнергетическими процессами [6, 8, 13—15]. Есть экспериментальные данные об аллостерической природе фермента [6, 14, 15]. Представлены первые схемы возможной регуляции креатинкиназы, включающие аллостерические и конкурентные механизмы ингибирования каталитической активности фермента [8, 13]. Можно полагать, что процессы диссоциации—ассоциации субъединиц креатинкиназы также являются одним из механизмов регуляции активности этого фермента [11, 12].

В связи с этим особую актуальность приобретает вопрос о молекулярных механизмах действия и регуляции креатинкиназы. Одним из наиболее информативных современных методов для исследования этих вопросов может явиться метод афинной модификации фермента.

В настоящей статье обобщены литературные и некоторые наши данные о структуре и механизме действия креатинкиназы.

В тканях креатинкиназа присутствует в виде нескольких изоферментов. Из них наиболее хорошо изучен изофермент 3 (ММ), характерный для мышечной ткани. Данные, приведенные ниже, касаются именно этого изофермента, если источник фермента специально не оговорен.

Структура креатинкиназы. Принято считать, что креатинкиназа скелетных мышц состоит из двух идентичных или, по крайней мере, очень похожих друг на друга субъединиц, с молекулярной массой порядка 41 мегадальтон [38]. Общий аминокислотный состав изофермента ММ, характерного для скелетных мышц, определен для ряда видов, и эти результаты, а также данные разных авторов об аминокислотном составе изофермента ММ из скелетных мышц кролика согласуются друг с другом [36]. Анализ триптических пептидов в сочетании с количественным анализом концевой группы [38], а также пептидное картирова-

ние в различных системах креатинкиназы из различных источников указывают на идентичность полипептидных цепей [26, 36]. Из 360 аминокислот, составляющих каждую полипептидную цепочку, изучены лишь небольшие последовательности вокруг реакционноспособной SH-группы (примерно 10% от общего состава). При этом обнаруживается значительная гомология этих аминокислотных последовательностей при сравнении разных изоферментов креатинкиназы, а также креатинкиназы и других фосфогенкиназ [36]. В присутствии низких концентраций детергента субъединицы креатинкиназы диссоциируют без заметной потери нативной формы [38]. Сравнение гидродинамических свойств димера и мономера указывает на то, что молекула креатинкиназы состоит из двух яйцевидных субъединиц, расположенных, по-видимому, бок о бок. Каждая субъединица содержит один активный центр, в котором имеются отдельные центры для связывания нуклеотидных и гуанидиновых субстратов. До недавнего времени было принято считать, что активные центры каждой субъединицы действуют независимо друг от друга [36]. Первые сомнения в идентичности субъединиц креатинкиназы и независимости их поведения возникли после опубликования работ Мак-Лауглина [28] и Прайса и сотр. [16], хотя и до этого некоторые особенности поведения реакционноспособных SH-групп креатинкиназы, особенно немышечного происхождения, наводили на мысль об их функциональной неидентичности [19, 26]. Мак-Лауглин, используя метод флуоресцентной метки, обнаружил, что кинетика связывания АДР с мышечным ферментом в присутствии креатин- NO_3 проявляет признаки, характерные для отрицательной кооперативности, не обнаруживающиеся в отсутствие этих лигандов. Отсюда и предположение о том, что только в комплексе переходного состояния имеет место существенное взаимодействие между двумя субъединицами. Представляет интерес тот факт, что присутствие ионов металла не обязательно для проявления кооперативности связывания АДР, однако их наличие в среде значительно увеличивает этот эффект [28]. К аналогичным выводам пришли, изучая кинетику модификации мышечной креатинкиназы тиоловыми агентами, связывание АДР с ферментом в отсутствие и в присутствии компонентов «аналога комплекса переходного состояния» (Mg , креатин, АДР, NO_3) в различных сочетаниях; при этом не исключалась также возможность неидентичных центров связывания [16].

Изучая кинетику афинной модификации креатинкиназы аналогами нуклеотидных субстратов АТР-4 (N-2-хлорэтил-N-метиламино)-бензил- γ -амидом АТР [4, 11] и γ -(п-азидоаниламидом)-АТР [1, 2], мы также обнаружили явление неидентичного поведения субъединиц мышечной креатинкиназы. Оказалось, что при взаимодействии креатинкиназы с аналогами модификация одной субъединицы по сравнению с другой протекает с большей скоростью и ведет к более глубокой инактивации фермента, особенно в случае с алкилирующим реагентом. Специальное изучение кооперативности активных центров креатинкиназы при комплексобразовании с γ -амидами АТР методом флуоресцентного титрования показало существенное различие в величинах микроскопических K_d

[5]. Неидентичное поведение субъединиц креатинкиназы выявилось и в экспериментах по защите фермента субстратами от инактивации γ -(п-азидоанилидом)-АТР. При практически полной защите креатинкиназы от инактивации в присутствии Mg-АДР наблюдается присоединение примерно одного моля аналога на один моль фермента. В связи с этим можно предположить, что вклад одной субъединицы в общую активность фермента или в регуляцию активности его невелик. Перечисленные выше эффекты могут быть следствием как отрицательного кооперативного взаимодействия нуклеотидсвязывающих центров, так и результатом изначальной неравноценности субъединиц креатинкиназы. Таким образом, функциональная неравноценность субъединиц креатинкиназы—факт, требующий пересмотра положения об идентичности субъединиц этого фермента. Какие тут могут быть подходы?

Можно полагать, что такое поведение субъединиц креатинкиназы обусловлено либо изначальной неравноценностью первичной структуры субъединиц фермента, либо неравноценностью четвертичной структуры, основанной на асимметрии связывания субъединиц, либо кооперативными взаимодействиями между субъединицами или комплексным действием этих факторов. В связи с указанными допущениями следует отметить ряд работ. Вилнамсон и сотр. специально исследовали молекулярную массу креатинкиназы из скелетных мышц кролика методом электрофореза в ПААГ в присутствии додецилсульфата натрия и нашли различие в молекулярных массах субъединиц фермента, которое соответствует различию в длине полипептидных цепочек примерно на 15 аминокислотных остатков. Эти данные носили предварительный характер, и, к сожалению, их подтверждения в дальнейшем не последовало [37]. В то же время изучение мономеров креатинкиназы методом изoeлектрического фокусирования выявило три полосы, ожидаемые в случае беспорядочного спаривания неидентичных субъединиц [17]. Однако при отсутствии детальных данных об аминокислотной последовательности субъединиц креатинкиназы нельзя однозначно определить, отражает ли эта гетерогенность генетическую вариацию, частичный протеолиз или какую-нибудь химическую модификацию, как, например, окисление или фосфорилирование. Даже кристаллографический анализ, выполненный с целью выяснения вопроса о гетерогенности субъединиц, не дал окончательного ответа. В заключение авторы указанной работы предполагают, что кристаллы креатинкиназы содержат идентичные или очень похожие субъединицы с одной и той же степенью скрученности полипептидных цепочек. Итак, очевидно, что сейчас возникла острая необходимость в более тщательном исследовании современными методами первичной структуры креатинкиназы для окончательного решения вопроса о структурной идентичности субъединиц этого фермента.

Как известно, кооперативные взаимодействия предполагают передачу конформационных изменений, имеющих место при связывании субстратов и других лигандов, с одной субъединицы на другую. Возможность такой передачи подтверждается данными о взаимодействии существенных SH-групп фермента с иодацетатом и его производными,

N-этилмалеинимидом [8, 16]. Увеличение размера реагента ведет к усилению бифазного характера реакции SH-группы с ферментом. Особенно выражен этот эффект (22-кратное различие в реактивности SH-групп) в реакции с наибольшим по размеру из изученных реагентов [16].

Особый интерес представляет серия работ Дегани и сотр., в которых функциональная неравноценность субъединиц креатинкиназы объясняется асимметричным связыванием их в четвертичной структуре [20—22]. Авторы исследовали креатинкиназу из скелетных мышц и мозга кролика, сердца быка методом химической модификации реактивных SH-групп и свои предположения о гетерологичной структуре фермента строят на основании следующих фактов. Субъединицы креатинкиназы в димере отличаются по своей способности взаимодействовать с цианилирующими реагентами, причем отличие это носит избирательный характер: на одной субъединице (А) SH-группа подвергается нормальному цианилированию, тогда как соответствующий тиол на смежной субъединице (В) реагирует аномально. Димер дает два изомерных моноциано-монотиобензоатных производных, отличающихся один от другого по энзиматической активности (один активен на 75%, а другой не активен) и химической реактивности по отношению к цианиду. Блокирование реакционноспособного тиола на субъединице А не действует на ферментативную активность, тогда как блокирование соответствующего тиола на субъединице В нарушает каталитическую активность обеих субъединиц. Таким образом, предполагаемая авторами гетерологичность структуры фермента может обусловить различие в химическом окружении реактивных SH-групп на каждой субъединице, что выражается в неидентичных реакциях их с цианилирующими реагентами. Кроме того, указанные данные свидетельствуют о том, что в димере имеют место межсубъединичные конформационные взаимодействия, которые вовлекаются в каталитический акт. Таким образом, возможность асимметричного связывания субъединиц не исключает возможности кооперативных взаимодействий.

Сложность объяснения факта функциональной неравноценности субъединиц креатинкиназы на основании имеющегося в настоящее время экспериментального материала очевидна, поэтому более расширенные исследования в этом направлении крайне необходимы. Следует отметить, что обнаружение функциональной неравноценности субъединиц креатинкиназы поставило на повестку дня также вопрос о роли субъединиц в димерной молекуле: обладает ли отдельная субъединица ферментативной активностью, как отличаются свойства изолированной субъединицы от свойств димерной молекулы?

Изучение кинетики креатинкиназной реакции показало, что при разведении фермента его удельная активность увеличивается [15]. Как известно, это явление характерно для ферментов, диссоциирующих на более активные олигомеры. Однако имеющиеся до недавнего времени в литературе данные свидетельствовали о том, что каталитической активностью обладает только димер креатинкиназы. Мочевина и гуанидинхлорид диссоциируют креатинкиназу на две субъединицы. Удаление денатурирующего агента разбавлением или диализом ведет к реас-

социации субъединиц и почти полному восстановлению активности [19]. Прайс и сотр. подобрали такие условия ренатурации денатурированного фермента, что смогли получить продукт, по существу идентичный нативному по активности, кинетическим параметрам, спектру кругового дихроизма и т. д. [16]. Эти же исследователи разработали метод получения изолированных активных субъединиц, связанных с матриксом [16]. Таким образом, четвертичная структура креатинкиназы не является необходимым фактором для проявления ферментативной активности. Это предположение было подтверждено работами Четвериковой и сотр., которые изучали четвертичную структуру мышечной креатинкиназы в более мягких условиях эксперимента. Димерная молекула в кислой среде при небольших значениях ионной силы и концентрации белка диссоциирует на каталитически активные мономеры, причем существенно, что удельная ферментативная активность мономера значительно выше, чем димера. В щелочной среде при высоких значениях ионной силы и концентрации белка димер креатинкиназы агрегирует в тетрамерную форму [12]. Процессы обратимой ассоциации—диссоциации оказались свойственными и митохондриальной креатинкиназе [7]. Мономерная форма креатинкиназы была выделена из грудной мышцы голубя, но она была не активна, что, по-видимому, связано с лабильностью этой формы [3]. Значительный интерес представляют данные о разделении субъединиц креатинкиназы и свойствах отдельных субъединиц и димера, которые подробно будут рассмотрены в следующем сообщении. Здесь же следует отметить, что субъединицы мышечной креатинкиназы, полученные хроматографией на сефадексе с иммобилизованным афинным реагентом после инкубации фермента в диссоциирующих условиях, оказались каталитически активными и, что особенно важно, неидентичными по ряду свойств. Они отличались: по ферментативной активности (значительно более высокой, чем у димера), оптимуму pH для прямой и обратной реакций, родству к нуклеотидам, стабильности и, по-видимому, по молекулярной массе [11]. Высокая каталитическая активность субъединиц фермента и диссоциация мышечной креатинкиназы в условиях физиологических ионной силы, pH и концентрации белка свидетельствуют о возможном регуляторном значении обратимой диссоциации—ассоциации фермента. Как полагают Четверикова и сотр. [12], не исключено, что активация креатинкиназы в результате диссоциации на мономеры (под влиянием подкисления среды в процессе мышечного сокращения) является одним из механизмов, обеспечивающих быстроту мобилизации креатинфосфата.

Механизм действия. Детальные кинетические исследования креатинкиназы выявили беспорядочный механизм реакции, все стадии которой находятся в быстром равновесии, за исключением стадии переноса фосфора в комплексе фермента с обоими субстратами, которые связываются с ферментом, по-видимому, до каталитического акта [36]. Металл—активатор (им могут быть Mg, Mn, Ca, Co) образует комплекс с нуклеотидными субстратами, который является истинным субстратом этой реакции. Как свидетельствуют кинетические, термодинамические, ЯМР-исследования, металл связывается с ферментом через

нуклеотидный субстрат [36, 41]. При связывании субстратов с креатинкиназой наблюдается синергизм. Предполагают, что конформационные изменения, которые имеют место при связывании нуклеотидных субстратов с креатинкиназой, что обнаружено различными методами, способствуют изменению структуры фермента так, чтобы обеспечить связывание гуанидинового субстрата [28, 30, 36]. К сожалению, до сих пор не удалось показать конформационные изменения при присоединении гуанидинового субстрата к ферменту. Возможно, при этом имеет место определенный тип конформационных изменений, не регистрируемый используемыми методами [28]. Известно, что специфический класс анионов, а именно NO_3^- , HCOO^- , HCO_3^- , NO_2^- , ингибирует креатинкиназу путем стабилизации abortивного комплекса фермент—металл—АДР—креатин. Учитывая размеры и форму этих анионов, а также ряд экспериментальных данных об анионных комплексах, предполагается, что их ингибирующее действие обусловлено способностью занимать место переносимой фосфорильной группы в комплексе переходного состояния [28, 31—33]. Истинный механизм переноса фосфорила в каталитически активном комплексе креатинкиназы до сих пор не выяснен. Перенос может протекать по $\text{S}_\text{N}-2$ ассоциативному типу, по которому происходит линейное смещение переносимой фосфорильной группы от одного субстрата к другому, или по $\text{S}_\text{N}-1$ диссоциативному пути, при котором в процессе катализа образуется высокоактивный метафосфатный ион. Действие нитрата и других планарных анионов находится в соответствии как с одним, так и с другим механизмом. Следует отметить, что большинство авторов склоняется к мысли о правомочности первого предположения [16, 30, 36]. Очевидно, что прямая координация ионом металла переносимой фосфорильной группы строго предполагала бы $\text{S}_\text{N}-2$ тип механизма и противоречила бы $\text{S}_\text{N}-1$ типу. Следовательно, выяснение положения металла в активном комплексе дало бы возможность определить механизм креатинкиназной реакции. Исследования с использованием магнитного резонанса выявили, что в тройном комплексе металл связан с α - и β -фосфатами нуклеотидов и что в четвертичном комплексе переходного состояния, возможно, возникает связь металла с ферментом [33]. Для окончательного выяснения этого вопроса Рид и сотр. исследовали способ связывания ингибиторных анионов (тиоцианата, азиды, нитрата) с abortивным комплексом креатинкиназы, используя метод инфракрасной спектроскопии [32]. Анализ спектров комплексов анион—металл и фермент—металл—АДР—анион—креатин убедительно показал, что в последнем комплексе анион связан с активирующим металлом. Однако, по мнению авторов, ион металла не является единственной или даже решающей детерминантой взаимодействия аниона с активным центром фермента. По-видимому, в активном центре креатинкиназы существует дополнительная детерминанта взаимодействия аниона с ферментом, возможно, $\epsilon\text{-NH}_2$ группа остатка лизина, близость которого к формату в комплексе фермент— Mg —АДР—формат—креатин показана методом двойного ядерного резонанса [34]. На основании полученных данных Рид и сотр. [32] предлагают модель комплекса переходного состояния, основное отличие кото-

рой от предложенной ранее модели [29, 33] состоит в том, что мигрирование фосфорильной группы связано с ионом металла. Предполагается, что гуанидиновый азот атакует фосфор γ -фосфорильной группы АТР, одновременно ослабляя связь Р-О (рис.). Это, по-видимому, об-

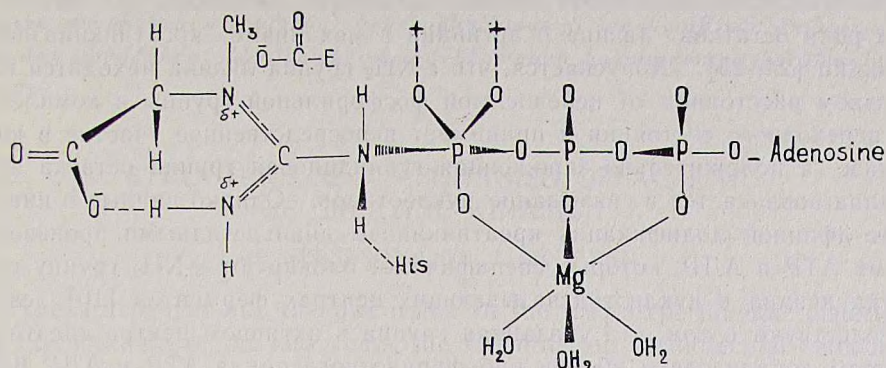


Рис. Схематическое изображение структуры переходного состояния при переносе фосфила в креатинкиназной реакции (по Cook et al., 1981). His—гипотетический кислотно-основной катализатор; E-COO⁻—гипотетическая карбоксильная группа.

уславливает приобретение γ -фосфором пентакоординированной тригональной бипирамидальной структуры в переходном состоянии реакции. В такой модели ион металла, вероятно, связан с одним из плоскостных кислородов тригональной бипирамиды. Атом кислорода, который образует мостик между атомами фосфора в ходе катализа, движется линейно в направлении или прочь от атома фосфора переносимой фосфорильной группы, благодаря складчатому движению хелатного кольца, образованного ионом металла, α - и β -фосфорильными группами.

Попыток идентификации отдельных групп аминокислотных остатков креатинкиназы, вовлекаемых в процесс катализа, сделано много. В большинстве случаев был использован метод химической модификации боковых цепей аминокислот, однако до сих пор окончательно не выяснена роль ни одной аминокислоты, расположенной в активном центре фермента. Сложность этой проблемы наглядно иллюстрируется эволюцией оценки роли SH-групп в каталитическом механизме креатинкиназы. Согласно раннему представлению, тиол-имидазольная пара в активном центре фермента принимает непосредственное участие в процессе катализа, осуществляя перенос протона от гуанидиновой группы креатина на АДР в прямой реакции и наоборот—в обратной, однако в дальнейшем было показано, что модификация SH-групп не всегда приводит к полной потере активности фермента [36]. Получены препараты креатинкиназы с модифицированными SH-группами, которые сохраняли высокую активность [22]. Таким образом, хотя «существенные» SH-группы фермента и расположены, по-видимому, недалеко от активного центра, о чем свидетельствуют полная защита их от химической модификации смесью активных субстратов [31] и данные, полученные методами магнитного резонанса с использованием ковалентно

прикрепленной спиновой метки [28, 29], однако они не принимают участия в связывании субстратов и непосредственно в катализе. Возможно, их роль заключается в обеспечении конформационных изменений в каталитически активном фермент-субстратном комплексе [16, 22]. Следовало бы попытку использовать методы магнитного резонанса для выяснения роли остатков лизина и аргинина в механизме креатинкиназной реакции [24, 25]. Допускается, что ϵ -NH₂ группа лизина находится на близком расстоянии от переносимой фосфорильной группы в комплексе переходного состояния и принимает непосредственное участие в катализе, а положительно заряженная гуанидиновая группа остатка аргинина вовлекается в связывание нуклеотидов. Однако данные о кинетике аффинной модификации креатинкиназы диальдегидными производными АТР и АДФ, которые специфически блокируют ϵ -NH₂ группу остатка лизина в нуклеотидсвязывающих центрах ферментов [10], свидетельствуют о том, что указанная группа в активном центре креатинкиназы локализована вблизи рибофуранозного цикла АТР и АДФ при образовании последними комплексов с ферментом. Возможно, она необходима для правильной ориентации полифосфатной цепочки нуклеотидов в активном центре фермента, но не принимает непосредственного участия в каталитическом акте. Получены данные о взаимодействии пуриновой части нуклеотидных субстратов с одним или более остатками триптофана при связывании их с ферментом [35]. Есть предположения о вовлечении в механизм креатинкиназной реакции остатков гистидина [8, 36] и тирозина [23]. Недавно была сделана попытка обобщить имеющиеся фрагментарные, часто противоречивые, данные о способе связывания субстратов, геометрии активного центра и химическом механизме действия фермента, дополнив их собственными данными анализа кинетических параметров мышечной креатинкиназы в зависимости от pH, температуры, растворителя [18]. Очевидно, что в процесс креатинкиназной реакции вовлечен кислотно-основной катализатор, необходимый для акцептирования протона от гуанидиновой группы в ходе фосфорилирования и поставки протона в ходе обратной реакции. Эта роль отводится гистидину (рис.). Карбоксильная группа, которая должна быть понижена в ходе реакции, по-видимому, участвует в связывании и ориентации гуанидиновых субстратов. Очевидно, имеет место сильное взаимодействие между этой карбоксильной группой и третичным азотом гуанидиновой группы, что наряду с возможной водородной связью между карбоксилем креатина и свободной NH₂-группой гуанидиновой группы содействует нуклеофильной атаке азота, подвергаемого фосфорилированию (рис.). Следует отметить, что в предложенной схеме структуры переходного состояния много умозрительных заключений. Точная идентификация остатков аминокислот активного центра креатинкиназы, выяснение истинного механизма действия фермента — задача будущих исследований, при этом использование метода аффинной модификации как для определения структурных элементов активного центра, так и для исследования динамических аспектов взаимодействия креатинкиназы с различными лигандами может иметь большое значение.

Լ. Ս. ՆԵՐՏԵՍՈՎԱ, Ժ. Ի. ՀԱԿՈԲՅԱՆ

Հոդվածում քննվում են սեփական փորձառական նյութը և զրականության վերջին տարիների տվյալները՝ կրեատինկինազայի ազդեցության մոլեկուլային մեխանիզմները, ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի կառուցվածքային ձևակերպումը:

STRUCTURE AND MECHANISM OF ACTION OF CREATINE KINASE. I

L. S. NERSESOVA, Zh. I. AKOPYAN

The article contains the discussion of the own experimental material and literary data of the last years, the examination of molecular mechanisms of creatine kinase action and structural organization of the active centre of this enzyme.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Акопян Ж. И., Газарянц М. Г., Мкртчян З. С., Нерсесова Л. С., Лаврик О. И., Попов Р. А. Биохимия, 46, 262, 1981.
2. Акопян Ж. И., Нерсесова Л. С., Мкртчян З. С., Газарянц М. Г., Кнорре Д. Г. IV Всесоюзн. биохим. съезд. Гез. научн. сообщ., 2, 20, 1979.
3. Белоусова Л. В., Мешкова Н. П. Биохимия, 38, 185, 1973.
4. Газарянц М. Г., Мкртчян З. С., Нерсесова Л. С., Курбатов В. А., Кнорре Д. Г., Акопян Ж. И. Докл. АН АрмССР, 66, 160, 1978.
5. Горшкова И. И., Лаврик О. И., Попов Р. А. Биохимия, 46, 1964, 1981.
6. Куприянов В. В., Панасенко Н. А., Сакс В. А. Биоорганическая химия, 6, 116, 1980.
7. Липская Т. Ю., Темпл В. Д., Белоусова Л. В., Молокова Е. В., Рыбина И. В., Биохимия, 45, 1155, 1980.
8. Лызлова С. Н., Тааме Н., Стефанов В. Е., Кужакова Г. А. В сб.: Структурные основы и регуляция биологической подвижности, 108, М., 1980.
9. Мкртчян З. С., Нерсесова Л. С., Акопян Ж. И., Бабкина Г. Т., Бунева В. А., Кнорре Д. Г. Биохимия, 45, 5806, 1980.
10. Невинский Г. А., Газарянц М. Г., Мкртчян З. С. Биоорганическая химия, 9, 487, 1983.
11. Невинский Г. А., Анкилова В. А., Лаврик О. И., Мкртчян З. С., Нерсесова Л. С., Акопян Ж. И. Биохимия, 48, 339, 1983.
12. Розанова Н. А., Четверикова Е. П. Биохимия, 46, 2125, 1981.
13. Сакс В. А., Куприянов В. В., Елизарова Г. В., Сеппет Э. К., Джекобус В. Э. В сб. Метаболизм миокарда. Мат-лы 4-го Сов.-амер. симп., Ташкент, 1979, 67, М., 1981.
14. Тааме Н., Стефанов В. Е., Лызлова С. Н. Биохимия, 44, 460, 1979.
15. Четверикова Е. П., Розанова Н. А. Биохимия, 42, 481, 1977.
16. Bickerstaff G. H., Price N. C. Int. J. Biochem., 9, 1, 1978.
17. Burgess A. N., Lidell J. M., Cook W., Tweedie R. M., Swan D. A. J. Mol. Biol., 123, 691, 1978.
18. Cook P. F., Kenion G. L., Cleland W. W. Biochemistry, 20, 1204, 1981.
19. Dawsons D. M., Eppenberger H. M., Kaplan N. O. J. Biol. Chem., 242, 210, 1967.
20. Degani Y., Degani Ch. Biochemistry, 18, 5917, 1979.
21. Degani Y., Degani Ch. J. Biol. Chem., 255, 8221, 1980.
22. Degani Y., Degani Ch. Trends Biochem. Sci., 5, 337, 1980.

23. *Fattoum A. R., Kassab L. A.* Biochem. Biophys. Acta, 405, 324, 1975.
24. *James T. L.* Biochemistry, 15, 4724, 1976.
25. *James T. L., Cohn M. J.* Biol. Chem., 249, 2599, 1974.
26. *Kumudawalli J., Moreland B. H., Watts D. C.* Biochem. J., 117, 513, 1970.
27. *Marletta M. H., Kenlon G. L. J.* Biol. Chem., 254, 1879, 1979.
28. *Mc Laughlin A. C. J.* Biol. Chem., 249, 1445, 1974.
29. *Mc Laughlin A. C., Leigh J. S., Cohn M. J.* Biol. Chem., 251, 2777, 1976.
30. *Mildvan A. S.* Ann. Rev. Biochem., 43, 357, 1974.
31. *Milner-White E. J., Kelly J. D.* Biochem. J., 157, 23, 1976.
32. *Reed G. H., Barlow C. H., Burns R. A. J.* Biol. Chem., 253, 4153, 1978.
33. *Reed G. H., Cohn M. J.* Biol. Chem., 247, 3073, 1972.
34. *Reed G. H., Mc Laughlin A. C.* Ann. N.-Y. Acad. Sci., 222, 118, 1974.
35. *Vasak M., Nagayama K., Waltherich K., Merlens M. L., Kógl H. R.* Biochemistry 18, 5050, 1979.
36. *Watts D. C.* Creatine kinase. In: The Enzymes, 8, N.-Y., Acad. Press, 1973.
37. *Williamson J., Green J., Cherif S., Milner-White E. J.* Biochem. J., 167, 731, 1977.
38. *Yue R. H., Palmieri P. H., Olson O. F., Kuby S. A.* Biochemistry, 6, 3204, 1967.

«Биолог. жс. Армении», т. XXXVI, № 10, 1983

УДК 577.158:616.45—001.1/3

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ КЛЕТКИ В УСЛОВИЯХ АКУСТИЧЕСКОГО СТРЕССА

М. М. МЕЛКОНЯН, А. Г. АРАКЕЛЯН, В. Г. МХИТАРЯН

Изучено действие акустического стресса на активность ферментов антирадикальной защиты супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы.

Полученные результаты свидетельствуют о фазовом характере сдвигов, интенсивность и направленность которых зависят как от вида изучаемой ткани, так и от сроков воздействия. Введение α -токоферола в дозе 1 мг/кг массы животного оказывает регуляторное влияние на активность указанных ферментов.

Ключевые слова: акустический стресс, перекисное окисление липидов, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза.

Ранее нами были выявлены сдвиги в процессах перекисного окисления липидов (ПОЛ) при акустическом стрессе, сопровождающиеся значительным снижением в тканях уровня α -токоферола [4]. Нормально функционирующие ткани характеризуются низким стационарным уровнем липопереокисления, в особенности интактная сердечная мышца. Пониженная способность интактной сердечной мышцы к генерации липидных перекисей, стационарный уровень ПОЛ в мозге и печени сочетаются с высоким уровнем в них жир- и водорастворимых антиоксидантов, а также активностью антиоксидательной ферментной системы, срабатывающей на различных стадиях образования активных форм кислорода. Важная антиоксидантная роль принадлежит супероксиддисмутазе (СОД), глутатионредуктазе и глутатионпероксидазе.