

of α -tocopherol content in tissues. Dibunol regulates the intensity of lipid peroxidation processes, the level of α -tocopherol in tissues, the activity of the named enzymes.

Dibunol inhibits the appearance of the active form of the oxygen, 100.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Барсень В. А. Тез. Всесоюзн. совещ. «Биоантиоксидант», 118, Черногоровка, 1983
2. Буракола Е. Б. и др. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте 52, М., 1975.
3. Буракола Е. Б., Кузтина Е. П., Храпова Н. Г., Аристратова С. А., Биохимия, 892, 47, 6, 1982.
4. Ланкин В. Э., Гуревич С. М. Докл. АН СССР, 87, 228, 3, 1976.
5. Мхитарян В. Г., Араратян Э. А., Микаелян Э. М., Мелконян М. М. Ж. экпер. и клин. медицины, 13, 17, 5, 1977.
6. Микаелян Э. М., Мелконян М. М., Медик-Агаева Е. А., Мхитарян В. Г. Ж. экпер. и клин. медицины, 11, 19, 5, 1979.
7. Ракитя Д. Р., Коновалова Г. Г., Чепланенко Н. М. и др. Тез. Всесоюзн. совещ. «Биоантиоксидант», 46, Черногоровка, 1983.
8. Храпова Н. Г. Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии, 59, М., 1982.
9. Duggan D. E. Arch. Biochem. Biophys., 84, 116, 1959.
10. Morimitsu Nishihimi N., Appaji Rao Jment. Jagu. Biochem. Biophys. Res. Commun., 46, 3, 849, 1972.
11. Nohl H., Hegner D. Mech. Ageing Develop., 11, 145, 1979.
12. Lowry O. H., Rosenbrensk A., Beer K., Raymond F. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.

«Биолог. ж. Армения», т. XXXV/1, № 2, 1984

УДК 612.447+591.1*7

АКТИВНОСТЬ Ca^{2+} -АТФазы САРКОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА БЕЛЫХ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОПАРАТИРЕОЗЕ

Д. И. ХУДАВЕРДЯН, Э. Э. МХЕЯН

Показано, что в условиях гипопаратиремии околощитовидных желез, на 5—6-е сутки после операции снижается активность Ca^{2+} -АТФазы белых скелетных мышц крыс, что, во-первых, может способствовать возникновению судорог.

Ключевые слова: гипопаратиреоз, Ca^{2+} -АТФазы, саркоплазматический ретикулум.

Гипофункция околощитовидных желез проявляется в двигательных, трофических и токенических расстройствах. Судорожный синдром, наиболее выраженный в симптомокомплексе этого заболевания, протекает на фоне уменьшения содержания ионов кальция в биологических жидкостях организма [3].

В настоящее время окончательно не выяснена роль процессов, протекающих на различных уровнях нервно-мышечного аппарата, в разви-

тии моторных нарушений при гипопаратиреозе. Часть исследователей появление двигательных расстройств связывают с возникновением спонтанных разрядов в периферических нервных волокнах [7]. Другие, принимая во внимание важную роль ионов кальция в стабилизации мембран возбудимых клеток, а также в инициации мышечного сокращения, первопричиной считают изменения в самих мышцах [2].

По современным представлениям, ионы кальция в белых скелетных мышцах депонированы в основном в саркоплазматическом ретикулуме (СР), который с помощью всрещенного в него интегрального белка Ca^{2+} -АТФазы регулирует концентрацию ионизированного кальция в миоплазме при сокращении и расслаблении мышцы [1]. Функциональная активность самого фермента во многом определяет характер сократительного ответа всей мышцы.

Цель настоящей работы состояла в изучении у паратиреопривных крыс с выраженной гипокальциемией активности транспортной Ca^{2+} -АТФазы. Полученные результаты могут пролить свет на решение вопроса о значимости процессов, протекающих в мышечной клетке, в развитии моторных расстройств при гипопаратиреозе.

Материал и методика. Опыты проводились на белых крысах-самцах Вистар массой 120—150 г. Гипопаратиреоз вызывали электрокоагуляцией околотитовидных желез под эфирным наркозом. О развитии гипопаратиреоза судили по степени уменьшения содержания Ca^{2+} в сыворотке крови, а также общему состоянию животных (ограничение двигательной активности, фибриллярные подергивания мышц, судороги и т. д.). Саркоплазматический ретикулум выделяли из белых скелетных мышц задних конечностей крыс по методу Левницкого и др. [8]. Взвешенные мышцы измельчали в ледяной среде выделения, содержащей 0,1 М КСl и 10 мМ NaHCO_3 , в гомогенизаторе «Artis-45». После низкоскоростного (9500×г, 20 мин) центрифугирования из супернатанта осаждали микросомы (32000×г, 60 мин). Осадок отмывали 0,6 М раствором хлористого калия и центрифугировали в течение 60 мин при 73000×г. Полученный осадок супероксидировали в 20%-ном растворе сахарозы, содержащем 10 мМ имидазол (рН 7,0). Активность Ca^{2+} -АТФазы и скорость поглощения кальция в присутствии оксалата калия измеряли рН-метрическим методом, описанным ранее [9]. 1,3 мл среды инкубации, содержащей 0,1 М КСl, 5 мМ АТФ-Na, 6 мМ MgCl_2 , 4 мМ азида Na, 6 мМ оксалата калия, 10 мМ трис-НСl-буфер (рН 6,8—6,9), вносили в ячейку, установленную на магнитной мешалке (120°). В постоянно перемешиваемый раствор вносили до 0,1 мл белка СР. После поглощения пузырьками примесного кальция реакцию начинали внесением 200 нмоль CeCl_2 . Концентрацию белка определяли по Хартри [6].

Результаты и обсуждение. Крыс забивали на 5—6-е сутки после операции при условии развития у них симптомов двигательных нарушений и понижения содержания кальция в сыворотке крови. Обычно к этому сроку уровень кальция в крови падает до 1—1,2 мМ/л при норме 2,3—2,5 мМ/л. Контрольной являлась группа ложнопериорированных крыс, у которых содержание Ca^{2+} по сравнению с нормой практически не менялось. Фракцию СР быстрых мышц выделяли у живых обеих групп одновременно, в одинаковых условиях.

Результаты показали, что удельная активность Ca^{2+} -АТФазы у паратиреопривных крыс достоверно ниже, чем у контрольных (табл.). Величина $\text{Ca}/\text{АТФ}$, характеризующая эффективность транспорта Ca^{2+} , примерно одинакова у крыс обеих групп и составляет 0,9—1,1. Следо-

Активность Ca^{2+} -АТФазы в СР быстрых мышц (в $\mu\text{моль } \Phi_{\text{д}}/\text{мг белка в 1 мин}$) и скорость поглощения кальция (в мг белка в 1 мин) у интактных и паратиреопривных крыс ($M \pm m$)

Группа животных	Ca^{2+} -АТФазы	Скорость поглощения Ca^{2+}	Содержание Ca^{2+} в крови, $\mu\text{моль/л}$
Контрольные	$1,2 \pm 0,08$ n=13	$1,15 \pm 0,02$ n=8	$2,5 \pm 0,25$
Опытные	$0,86 \pm 0,03$ n=14 p=0,01	$0,9 \pm 0,07$ n=12 p<0,01	$1,1 \pm 0,3$

вательно, наблюдаемое небольшое, но достоверное снижение активности фермента не отражается на эффективности транспорта.

При анализе полученных кривых обнаружилось, что они в основном идентичны, и их можно условно разделить на части (рис.): первая фаза быстрого захвата указывает на интенсивный захват Ca^{2+} пузырьками ретикулума; во второй фазе поглощение идет медленное, и оно равномерно на данном участке кривой. Для контрольной группы эта фаза одновременно является завершающей, поскольку непосредственно за ней следует «плато», являющееся отражением работы «базальной», или Mg^{2+} -АТФазы. На кривых же подопытной группы отчетливо проявляется третья фаза — небольшой пологий отрезок, свидетельствующий о некотором «затруднении» поглощения Ca^{2+} . При последующих добавках хлористого кальция в среду (по 200 $\mu\text{моль}$) картина записи повторяется.

Рядом исследователей показано, что сопряжение между гидролизом АТФ и транспортом Ca^{2+} везикулами может быть нарушено, что выражается в ослаблении и даже прекращении процесса поглощения Ca^{2+} при сохранении интенсивности гидролиза АТФ [5]. Между тем результаты нашего исследования показывают, что при гипопаратиреозе разобщения между этими процессами нет, так как отношение $\text{Ca}/\text{АТФ}$

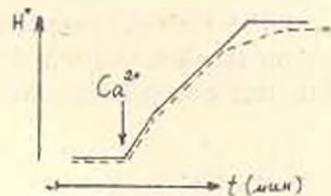


Рис. Схематическое изображение поглощения Ca^{2+} пузырьками СР. — — — контрольная группа животных, - - - - паратиреопривная группа животных.

практически не меняется. Наблюдаемые же сдвиги в активности фермента связаны с общим снижением активности или инактивацией части молекул фермента.

Известно, что сокращение и расслабление мышцы непосредственно связаны с количеством Ca^{2+} в миоплазме. В покоящейся мышце концентрации кальция в миоплазме поддерживается ниже порогового уровня (10^{-7}) путем захвата его и переноса внутрь СР против электрохимического градиента, что осуществляет Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФаза [1]. Следовательно, нарушение ее функций при гипопаратиреозе может привести

к замедлению закачки Ca^{2+} в СР и, соответственно, замедлению процесса расслабления мышцы, иначе говоря, к повышению степени готовности мышцы к сокращению.

Таким образом, на основании результатов проведенных исследований можно предположить, что снижение активности кальциевого насоса саркоплазматического ретикулума при гипопаратиреозе служит фактором, способствующим развитию судорожного синдрома. Неполное расслабление мышцы, наряду с облегчением проведения импульсов в нервно-мышечных синапсах [4], создает благоприятные условия для суммации отдельных сокращений и возникновения мышечного тетануса.

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории мембран и ионного транспорта ВКНЦ АМН СССР за помощь в проведении экспериментов.

Ереванский государственный медицинский институт, ЦНИИ,

лаборатория биофизики и молекулярной биологии

Поступило 8.VII 1983 г.

ՍՊՈՏԱԿ ԿՄՍԻՔԱՅԻՆ ՄԿԱՆՆԵՐԻ ՍԱՐԿՈՎԱԶՄԱՏԻՎ ԻՆՏԻՎՈՒՐՈՒՄԻ
 Ca^{2+} -ԱՆՅԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ՓՈՐՁԱՌԱԿԱՆ
ՀԻՊՈՊԱՐԱԹԻՐԵՈԶԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Գ. Ն. ԽՈՒԴԱՎԵՐԴՅԱՆ, Է. Է. ՄԻՆԵՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է առնետների սպիրտակ մկանների սարկոպլազմատիկ սևտիկուլումի Ca^{2+} -ԱՆՅԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԱՐՎԱՆԱԳԵԳՃՆԵՐԻ ՀԻՊՈՓՐՈՆԿԻՅՐԱԿԻ ՍԿԱՅԱՆՆԵՐՈՒՄ: Ցույց է տրվել, որ վիրահատությունից 5-6 օր անց Ca^{2+} -ԱՆՅԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ զգալիորեն նվազում է: Ենթադրվում է, որ վերոհիշյալ խախտումը նպաստում է ցնցումների առաջացմանը:

THE Ca^{2+} -ATPase ACTIVITY OF WHITE SKELETAL
MUSCLES SARCOPLASMIC RETICULUM DURING
EXPERIMENTAL HYPOPARATHYREOSIS

G. N. KHUDAVERYAN, E. E. MINEYAN

The Ca^{2+} -ATPase activity of the rats white skeletal muscles decreases on the 5th and 6th days after electrocoagulation of parathyroid gland. This fact can promote the rise of convulsive syndrome.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Болдырев А. А. Биохимические аспекты электромеханического сопряжения. М., 1977.
2. Клеге П., Клеге А. Гормоны, клетки, организм. М., 1971.
3. Романенко В. Л. Физиология кальциевого обмена. Киев, 1975.
4. Худавердян Г. Н. Бюлл. экспер. биол. и мед., 6, 634, 1977.
5. Шаму А. Е., Хурман Т. Р. Вестн. совр. биол., 91, 3, 350, 1981.
6. Hartree E. F. *Analit. Biochem.*, 45, 422, 1972.
7. Koenig H., Stahlacker H., Koentig R. S. *Proceed. soc. exper. biol. and med.*, 79, 2, 330, 1952.
8. Levitsky D. O., Aliev M. K., Kuzmin A. V., Levchenko T. S., Smienov V. N., Chazov E. J. *Biochim. et Biophys. Acta*, 443, 268, 1976.
9. Meissner G., Conner G. E., Fleischer S. *Biochim. et Biophys. Acta*, 299, 46, 1973.