

мозговой ткани, связана не с циклом мочевины, а с каким-то другим обменным процессом.

Проведенные нами исследования дают основание предположить, что митохондриальный и микросомальный ферменты являются различными молекулярными формами кислых фосфатаз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Манукян К. Г., Левонян К. М., Степанян А. А., Киракосян Л. Г., Казарян Т. Н. *Вопр. биохимии мозга*, 12, 68, Ереван, 1977.
2. Норкесян Р. Р., Аюрян Г. Т. *Биолог. ж. Армении*, 35, 3, 1982.
3. Baidijac C. K. M., Guira E., Blazencovich H. M. S., Chaimovich H. *Biochim. Biophys. Acta*, 391, 316, 1975.
4. Bowers W. E., De Dure C. J. *Cell. Biol.*, 32, 2, 333, 1976.
5. Bray H. G., Thorpe W. V. *Methods of Biochem. Analysis*, 1, 27, 1961.
6. Buntiatian H. Ch., Davtian M. A. *J. Neurochem.*, 13, 743, 1966.
7. Herman J. L., Nordin R. C. *Arch. Biochem. Biophys.*, 152, 180, 1976.
8. Jabuta J. M., Kimura R., Shindo J., Tomia K. I. *Biol. Chem.*, 67, 47, 1970.
9. Lowry O. H., Lopez J. A. *J. Biol. Chem.*, 162, 3421, 1946.
10. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. *J. Biol. Chem.*, 193, 265, 1951.
11. Nordlie R. C., Lardy H. L. *Biochim. Biophys. Acta*, 53, 309, 1961.
12. Paigen K., Griffiths S. K. *J. Biol. Chem.*, 234, 259, 1959.
13. Pedro Soares de Araujo, Miles V., Miranda O. *Biochim. Biophys. Acta*, 452, 121, 1976.
14. Sheid B., Morris H. P., Roth L. S. *J. Biol. Chem.*, 240, 3016, 1965.
15. Tanizaki M. U., Bittencourt H. M. S., Chaimovich H. *Biochim. Biophys. Acta*, 485, 116, 1977.

Получено 13 VI 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 7, 546—550, 1987

УДК 577.112:547.915.5:591.412

ФОСФОЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ПРОТЕОЛИПИДОВ ИЗ СЕРДЦА КРЫСЫ

К. Л. ЛЕВОНЯН, К. Г. МАНУКЯН

Институт биохимии АН Армянской ССР, г. Ереван

Аннотация — Изучен фосфолипидный состав протеолипидов из сердца крысы, «очищенных» в разной степени от липидов. Фосфолипиды составляют 41,4% от массы неочищенных ПЛ и 18—13% от массы очищенных в зависимости от условий очистки. По мере очистки в протеолипидах сердечной мышцы снижается содержание менее прочно связанных с белком нейтральных фосфолипидов и возрастает содержание более прочно связанных кислых, особенно дифосфатидилглицеринов. Последние являются преобладающими фосфолипидами очищенных ПЛ, составляя более половины всех связанных фосфолипидов.

Անոտացիա — Առամեմասխրվել է առեւտները սրտից անջատված լիպիդներից տարբեր աստիճանի մաքրված պրոտեոլիպիդների ֆոսֆոլիպիդային կազմը: Ֆոսֆոլիպիդները կազմում են ընթացված ՊԼ-ների մասսայի 41,4%, իսկ մաքրվածների՝ 18—13%, կախված մաքրման պայմաններից: Մաքրման ընթացքում սրտամկանի ՊԼ-ներում պակասում է ավիտակուցի հետ ադիկի թույլ կապված ընդոֆոսֆոլիպիդների քանակը, իսկ ազելի ամուր կապված ԲԲԸ ֆոսֆոլիպիդների, հատկապես դիֆոսֆատիդիլգլցերինի քանակը աճելանում է: Վերջինները հանդիսանում են մաքրված ՊԼ-ների գերակշռող ֆոսֆոլիպիդները, որոնք կազմում են բոլոր կապված ֆոսֆոլիպիդների կեսից ազելին:

Abstract — Phospholipid composition of rat heart proteolipids, „purified“ to various degree from lipids has been studied. Crude PL contain 41,4% of phospholipids and purified — 18-13%, depending on conditions of purification. During purification in PL decreased the concentration of less tightly bound with PL protein neutral phospholipids and increased the content of more tightly bound acidic phospholipids. The latter predominate in purified PL, making up more than the half of all the connected phospholipids.

Ключевые слова: сердце, протеолипиды, фосфолипидный состав.

Протеолипиды (ПЛ), выделенные впервые Фолчем и Лис в 1951 г. [9], являются гидрофобными липопротеинами, которым отводится определенная роль в структуре и функциях различных мембран, в частности, митохондриальных. После мозга из всех органов наиболее богато ПЛ сердце [1, 9], где они локализованы в основном в митохондриях [14], и, как полагают, могут участвовать в процессах трансформации энергии [7, 15]. В связи с предполагаемой важной функцией ПЛ исследование строения и свойств этих липидно-белковых комплексов в сердечной мышце представляет значительный интерес. В литературе имеются некоторые данные относительно белковой части ПЛ [11], липидный компонент изучен меньше.

В настоящей работе представлены результаты исследования качественного состава и количественных соотношений фосфолипидов (ФЛ), связанных с ПЛ и выделенных в виде растворимых, «очищенных» в разной степени от липидов липидно-белковых комплексов из сердца крысы. Параллельно определяли фосфолипидный состав суммарных липидных экстрактов.

Материал и методика. Опыты проводили на беспородных белых крысах массой 180 г. Крыс декапитировали. Сердце из льду очищали от крови и оболочек. Кашицу из сердечной мышцы промывали несколько раз охлажденным раствором 0,9%-ного NaCl. Липидные экстракты, содержащие ПЛ, получали и отмывали по методу Фолча и др. [10]. ПЛ выделяли из промытых липидных экстрактов методом эмульгирования—центрифугирования [3], с той разницей, что исключали последнее центрифугирование при 200 g, так как было замечено, что при этом утрачивается значительная часть ПЛ. Полученные препараты неочищенных ПЛ (НПЛ) после лиофилизации полностью растворялись в смесях хлороформ—метанол—вода (86:14:1 или 2:1 0,2). Следует отметить, что до сих пор не удавалось получить растворимые препараты ПЛ с помощью этого метода [8, 13], который применяется только для выделения ПЛ из мозга.

Лиофилизированные осадки НПЛ промывали 2 раза 250—300-кратным объемом смеси спирт—эфир (1:1) при -12° и $+23^{\circ}$. Полученные в результате «очищенные» ПЛ (ОПЛ) растворяли в смеси хлороформ—метанол—вода (2:1 0,2), определяли поглощение света при длине волны 278,5 мμ, после чего пробы выпаривали досуха. Расщепление ОПЛ, экстракцию и отмывку липидного компонента производили по методике, описанной ранее [3]. ФЛ разделяли методом восходящей хроматографии на бумаге, пропитанной кремниевой кислотой [6]. Исследованию подвергали экстракты липидов, выделенных нейтральной и подкисленной HCl до 0,04 N хлороформ-метаноловой смесью из ОПЛ, а также спирт-эфирные отмывы НПЛ. О фосфолипидном составе НПЛ судили по сумме ФЛ спирт-эфирных отмывов + ФЛ ОПЛ. Белок ПЛ определяли по методу Лис и Максман [12].

Результаты и обсуждение. В табл. 1 представлены данные о содержании белка ПЛ в суммарных липидных экстрактах сердечной мыш-

цы, а также НПЛ и полученных после их промывания смесью спирт—эфир) (1:1) при разных температурах ОПЛ. Промывание НПЛ при -12° приводит к удалению 43% всего материала, а при $+23^{\circ}$ —48%. Коэффициент оптической плотности препаратов ОПЛ при λ 278,5 нм составляет 11,1—11,5, что совпадает с данными о таковых мозга [3, 4].

Таблица 1. Содержание ПЛ в сердце крысы

Белок общих липидных экстрактов	мг на 1 г влажной массы		$E_{1\%}^{1\text{см}}$ λ 278,5 нм			
	НПЛ	ОПЛ		ОПЛ		
		-12°	$+23^{\circ}$	-12°	$+23^{\circ}$	
$3,66 \pm 0,08$ (25)	$7,48 \pm 0,26$ (14)	4,24 (2)	$3,85 \pm 0,26$ (12)	11,14 (2)	$11,51 \pm 0,60$ (8)	

В связи с тем, что с ПЛ сердца связаны в основном ФЛ, а гликолипиды и холестерин не обнаруживаются или присутствуют в небольших количествах [2, 8, 14], нами был изучен подробно фосфолипидный состав «очищенных» в разной степени ПЛ. Как видно из табл. 2, ФЛ составляют 41,1% от массы НПЛ и 18 и 13% от массы ОПЛ, промытых при разных температурах. С НПЛ связано 14,5% всех ФЛ суммарного липидного экстракта сердечной мышцы, а с ОПЛ, полученными после отмывки НПЛ при -12° и $+23^{\circ}$, —3,6 и 2,4% соответственно.

Таблица 2. Содержание ФЛ, связанных с НПЛ и ОПЛ сердца крысы

Фосфолипиды					
НПЛ		ОПЛ			
		-12°		$+23^{\circ}$	
% от веса НПЛ	% от ФЛ суммарного ли- пидного эк- стракта	% от веса ОПЛ	% от ФЛ суммарного липидного экстракта	% от веса ОПЛ	% от ФЛ суммарного липидного экстракта
41,39	14,49	17,94	3,64	12,96	2,39

В табл. 3 представлен фосфолипидный состав суммарного липидного экстракта, НПЛ и полученных после промывания последних ОПЛ сердечной мышцы. Содержание каждого ФЛ приведено в процентах от суммы ФЛ. Видно, что НПЛ содержат значительные количества нейтральных ФЛ (фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов), которые преобладают в НПЛ, а также сфингомиелинов и лизофосфатидилхолинов. Однако по сравнению с суммарным липидным экстрактом они характеризуются несколько более низким содержанием нейтральных ФЛ и более высоким кислых, особенно дифосфатидилглицеринов. Преобладание кислых ФЛ становится более выраженным по мере «очистки» ПЛ, которая приводит к почти полному удалению менее прочно связанных нейтральных ФЛ. ОПЛ, полученные после промывания НПЛ, содержат в основном кислые ФЛ, лизофосфатидилхолины и сфин-

гомиелины отсутствуют, а фосфатидилхолины и фосфатидилэтаноламины составляют в сумме 10—12%. Преобладающими ФЛ ОПЛ являются дифосфатидилглицерины, составляющие 54% от суммы всех связанных ФЛ, в меньших количествах содержатся фосфатидилсерины—8—11% и монофосфоинозитиды—8—10%. Кроме того, в составе ФЛ ОПЛ были обнаружены неидентифицированные пока кислые ФЛ (пять 4 и

Таблица 3. Фосфолипидный состав суммарных липидных экстрактов и ПЛ из сердца крысы, % от суммы Р липидов

Фосфолипиды	Суммарный липидный экстракт (11)	НПЛ (12)	ОПЛ	
			-12- (2)	+23 (9)
1. Линия старта	2.92	2.90	6.15	6.03
2. Неидентифицированные	0.36	0.51	4.57	2.40
3. Лизофосфатидилхолины	1.11	3.53	—	—
4. Неидентифицированные	—	0.65	3.09	3.63
5. Монофосфоинозитиды	3.94	4.31	9.83	7.79
6. Сфингомиелины	4.22	5.05	—	—
7. Фосфатидилхолины	42.65	36.79	7.29	5.13
8. Неидентифицированные	—	0.54	2.07	4.92
9. Фосфатидилсерины	5.05	6.32	8.22	10.73
10. Фосфатидилэтаноламины	30.04	21.54	4.70	5.23
11. Дифосфатидилглицерины	9.69	17.86	54.09	54.14
Кислые фосфолипиды 2+4+5+8+9+11	19.04	30.19	81.87	83.61
Нейтральные фосфолипиды 3+6+7+10	78.06	66.91	11.99	10.36
Сумма фосфолипидов (мкг Р в влажной массе)	835.04	121.03	30.43	18.73

Примечание: все приведенные в табл. проценты вычислены на основании статистически достоверных данных. В скобках число опытов

8), которые не удавалось выявить на хроматограммах ФЛ суммарного липидного экстракта и спиртэфирных отмывов НПЛ. В отличие от них неидентифицированные кислые ФЛ пять 2 обнаруживались как в суммарном липидном экстракте, так и в спирт-эфирных отмывах НПЛ.

Приведенные данные отчетливо показывают, что НПЛ и особенно ОПЛ по сравнению с суммарным липидным экстрактом, из которого они выделены, обогащены кислыми ФЛ: монофосфоинозитидами, фосфатидилсеринами, неидентифицированными кислыми ФЛ и особенно дифосфатидилглицеринами. Сумма кислых ФЛ в суммарном липидном экстракте сердца составляет 19, в НПЛ—30, а ОПЛ—82—84% (табл. 3).

Таким образом, ПЛ сердца, как и мозга [4, 5], имеют большое сходство к кислым ФЛ. По своему фосфолипидному составу они отличаются от ПЛ, выделенных из белого вещества мозга и миелина, где преобладающими ФЛ являются фосфатидилсерины, и приближаются к ПЛ серого вещества и митохондрий мозга, где основными ФЛ являются дифосфатидилглицерины, составляющие 33—46% от суммы ФЛ [4, 5]. Этим кислым ФЛ, как известно, отводится важная роль в структуре и функциях внутренней мембраны митохондрий.

Наши данные в отношении фосфолипидного состава ПЛ, выделенных из сердца с помощью метода эмульгирования-центрифугирования, в основном согласуются с данными Мураками и др. [14] и особенно

Эйхберга [8], которые выделили и очистили П.Л. сердечной мышцы другими методами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Киракосян Л. Г., Манукян К. Г., Левонян К. Л. Биолог. ж. Армении, 54, 789—794, 1981.
2. Левонян К. Л., Манукян К. Г., Казарян Т. И. Тез. докл. IV Всесоюзн. симп. по биохимии липидов, 68, Киев, 1983.
3. Манукян К. Г., Киракосян Л. Г., Левонян К. Л. В сб.: Вопр. биохимии мозга, 7, 140—149, Ереван, 1972.
4. Манукян К. Г. В сб.: Вопр. биохимии мозга, 13, 86—106, Ереван, 1979.
5. Манукян К. Г. Нейрохимия, 1, 51—65, 1982.
6. Смирнов А. А., Чирковская Е. В., Манукян К. Г. Биохимия, 26, 1027—1033, 1961.
7. Blondin G. A. Biochem. Biophys. Res. Commun., 87, 1057—1094, 1979.
8. Eichberg J. Biochim. Biophys. Acta, 167, 533—545, 1968.
9. Folch J., Lees M. J. Biol. Chem., 191, 807—817, 1951.
10. Folch J., Lees M. B., Sloane—Stanley G. H. J. Biol. Chem., 226, 497—509, 1957.
11. Folch—Pi J., Sakura D. J. Biochim. Biophys. Acta, 427, 410—427, 1976.
12. Lees M. R., Paxman S. Analyt. Biochem., 47, 184—192, 1972.
13. Murakami M., Sekine H., Funahashi S. J. Biochemistry (Japan), 51, 431—435, 1962.
14. Murakami M., Ozawa Y., Funahashi S. J. Biochemistry (Japan), 54, 166—172, 1963.
15. Racker E. Biochem. Soc. Trans., 3, 785—802, 1975.

Поступило 13.VI 1986 г.

Биолог. ж. Армении, т. 40, № 7, 550—554, 1987

УДК 577.15:547.952+546.18

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ЦЕРЕБРОЗИДОВ НА АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПЕЧЕНИ И МИОКАРДА КРЫС

Г. М. САРКИСОВА, Л. В. СУКНАСЯН, О. П. СОЦКИЯ,
Д. Ц. ПОГОСЯН, Г. А. ЧУХАДЖЯН

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра
биоорганической и биофизической химии

Аннотация — Показано, что длительное введение цереброзидов (5 мг/кг массы животного) приводит к разнонаправленным сдвигам в активности сукцинатдегидрогеназы печени и миокарда. Обсуждается возможное влияние изменений в фосфолипидном спектре на активность указанного фермента.

Անոտացիա — Զույգ է տրված, որ ցերեբրոզիդների երկարատև ներարկումը (5 մգ/կգ կենդանու մասսային) բերում է լյարդի և արտավանի ՍԴՀ-ի ակտիվության տարբեր ուղղություներով տեղաշարժի.

Վերարկում է ֆոսֆոլիպիդների սպեկտրի նախափոխ ազդեցությունը ՍԴՀ-ի ակտիվության վրա:

Abstract — It is demonstrated that chronic injection of cerebroside (5 mg/kg of animal body) brings to alterations in the succinate dehydrogenase activity in the rats liver and myocardium. A possible role of the changes in phospholipids spectrum on the succinate dehydrogenase activity is discussed.