

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.158.47:612.822.1.015.1:612.273

АКТИВНОСТЬ И СУБСТРАТНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ
МОНОАМИНООКСИДАЗ МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИГОРОШИНСКАЯ И. А., БРОНОВИЦКАЯ З. Г., КРИЧЕВСКАЯ А. А.,
КАРАБУХИНА Е. Г.

В предыдущих исследованиях установлено, что при острой кислородной интоксикации и в условиях холодового стресса имеет место изменение субстратной специфичности митохондриальной MAO [моноаминокислород-оксидоредуктаза (дезаминирующая), КФ 1.4.3.4]. Оно проявляется в снижении интенсивности дезаминирования моноаминов и в появлении способности дезаминировать глюкозамин, АМР, путресцин, ГАМК, в норме не являющиеся субстратами фермента [1, 2]. Подобные качественные изменения каталитических свойств MAO характерны также для лучевого поражения, злокачественного роста, гипервитаминоза D₂ и ряда других состояний [3, 4]. Снижение активности MAO в тканях животных и человека при гипоксических состояниях разной этнологии [5—8] ставит вопрос о субстратной специфичности фермента при гипоксии. Целью работы явилось изучение активности и субстратной специфичности MAO типов А и Б в митохондриальной фракции мозга крыс при гипоксической гипоксии.

Работа была проведена на беспородных белых крысах обоего пола массой 150—180 г. Гипоксическую гипоксию вызывали, помещая животных на 1 ч в барокамеру, и создавали атмосферное давление 29 ГПа, что соответствует «подъему» на высоту 9000 м. Скорость декомпрессии— 5 ГПа в мин. Митохондрии выделяли дифференциальным центрифугированием [9]. Активность MAO А определяли с субстратами серотонином и норадреналином, активность MAO Б—с субстратом п-интрофенилэтиламином. Исследовали также интенсивность дезаминирования глюкозамина, АМР и путресцина, в норме не являющихся субстратами MAO. О дезаминировании серотонина, норадреналина, АМР, глюкозамина и путресцина судили по освобождению аммиака в ходе 30-минутной инкубации в воздушной среде при 37,5° и pH 7,45 суспензии митохондрий с одним из субстратов в насыщающей концентрации. Содержание аммиака определяли фенол-гипохлоритным методом после изотермической отгонки [10]. При использовании в качестве субстрата

n-нитрофенилэтиламина об активности MAO судили по интенсивности окраски, развивавшейся в результате конденсации образовавшегося под действием фермента альдегида с избытком субстрата [9]. Белок определяли модифицированным методом Lowry [11]. При исследовании влияния ингибиторов MAO хлоргиллина и депренила суспензию митохондрий преникубировали с одним из ингибиторов в течение 15 мин при 20°. Ингибиторы использовали в концентрации 10^{-6} M, при которой они обладают максимально избирательным действием [12].

Как видно из таблицы, при гипоксии наблюдалось снижение активности MAO с субстратами—серотонином и норадреналином на 22 и 29% соответственно. В 3-х опытах из 15 имело место 100% ингибирование активности фермента с норадреналином. Параллельно снижению активности MAO типа А при гипоксии отмечалось увеличение интенсивности дезаминирования веществ, в норме не являвшихся субстратами MAO. Дезаминирование глюкозамина возрастало на 203, АМР—на 94, путресцина—на 122%. Активность MAO типа В при гипоксии достоверно не изменялась.

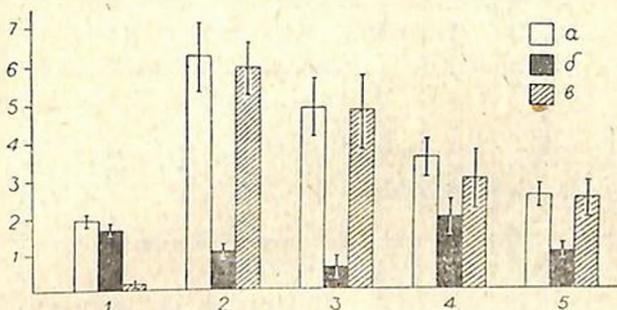


Рис. Влияние ингибиторов MAO на дезаминирование некоторых азотистых соединений митохондриями мозга при гипоксии: а—без ингибитора, б—влияние хлоргиллина, в—влияние депренила; 1—дезаминирование п-нитрофенилэтиламина, 2—серотонина, 3—глюкозамина, 4—АМР, 5—путресцина; по оси ординат—интенсивность дезаминирования (в нмоль азота аммиака/мг белка/мин)

Полученные данные о снижении активности MAO А и усилении интенсивности дезаминирования необычных субстратов позволили предположить, что при гипоксии изменяется субстратная специфичность MAO. Для проверки данного предположения исследовали влияние преникубации фермента со специфичными для MAO ингибиторами: MAO А—хлоргиллином, MAO В—депренилом [13].

Как видно из рисунка, хлоргиллин, снижавший на 83% активность MAO А и достоверно не изменявший активность MAO В, предотвращал усиление дезаминирования при гипоксии глюкозамина, АМР и путресцина. Депренил, тормозивший на 89% активность MAO В, не влиял на активность MAO А и на интенсивность дезаминирования необычных субстратов. Следовательно, усиление дезаминирования глюкозамина, АМР и путресцина при гипоксии обусловлено изменением субстратной специфичности MAO типа А.

Таблица

Деаминарование некоторых азотистых соединений митохондриями мозга крыс в норме и при гипоксии (в имоль азота аммиака/мг белка/мин), $M \pm m$

Условия опыта	Субстраты деаминации					
	п-нитрофенил-этиламин	серотонин	норадреналин	глюкозамин	АМР	путресцин
Контроль	$1,589 \pm 0,124$ (10)	$8,420 \pm 0,536$ (11)	$6,633 \pm 0,634$ (11)	$0,990 \pm 0,428$ (9)	$2,343 \pm 0,946$ (9)	$0,748 \pm 0,295$ (9)
Гипоксия (9 м, 1 ч) р	$1,413 \pm 0,126$ (14) >0,05	$6,526 \pm 0,662$ (15) <0,05	$4,685 \pm 0,673$ (15) <0,05	$3,001 \pm 0,372$ (13) <0,01	$4,553 \pm 0,506$ (15) <0,05	$1,660 \pm 0,274$ (11) <0,05
% изменения к контролю		-22%	-29%	+203%	+94%	+122%

Примечание. В скобках указано число опытов

Изменение каталитических свойств МАО А, но не МАО Б, обнаружено также при пилероксии [14], холодовом стрессе [2] и ряде других условий, способствующих трансформации [4].

Полагают, что трансформация МАО является результатом окисления ряда сульфгидрильных групп фермента липидными перекисями [3, 4]. Поскольку при гипоксии также имеет место усиление перекисного окисления липидов, связанное, очевидно, с накоплением ионов двухвалентного железа [15], аналогичное объяснение может быть принято и в данном случае. Нельзя исключить также влияние на фермент изменения при гипоксии структуры и проницаемости мембран. Модификация свойств МАО, в частности приобретение ею способности дезаминировать глюкозамин, являющийся компонентом мембран, может способствовать дальнейшему нарушению мембранных структур при гипоксии.

Снижение активности МАО типа А при отсутствии изменений в активности МАО типа Б подчеркивает роль серотонин- и норадреналинергических медиаторных систем в реакции организма на гипоксию. Изменение свойств МАО при гипоксии неспецифично и выражает, по-видимому, стандартную реакцию на резко изменившиеся условия среды, влияющие на свойства мембран.

EFFECT OF HYPOXIA ON THE ACTIVITY AND SUBSTRATE SPECIFICITY OF RAT BRAIN MONOAMINE OXIDASES

GOROSHINSKAYA I. A., BRONOVIZKAYA Z. G., KRICHEVSKAYA A. A.,
KARABUHINA E. G.

Research Institute of Biology and Chair of Biochemistry State University,
Rostov-on-Don

Hypoxic hypoxia (9000 m, 1 h) leads to a decrease in the activity of type A monoamine oxidase (MAO) with serotonin and noradrenaline as substrates. However, the rate of deamination of glucosamine, AMP and putrescine in brain mitochondria increases. Tests with selective inhibitors of MAO indicate that the latter effect is due to a change in the substrate affinity of type A MAO. The activity of type B MAO was not affected by hypoxia.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Горошинская И. А., Броновицкая З. Г. Вопросы мед. химии, 22, 558—562, 1976.
2. Горошинская И. А., Кричевская А. А., Броновицкая З. Г. Бюл. эксп. биол. и мед., 91, 431—433, 1981.
3. Горкин В. З. Вопросы мед. химии, 17, 118—136, 1972.
4. Горкин В. З. Химико-фармацевтический ж., 11, 6—13, 1977.
5. Хватова Е. М., Шуматова Е. Н., Рубанова Н. А., Ваулина В. А.—В кн.: Митохондрии, 176—180, М., Наука, 1972.
6. Brown R. M., Kehr W., Carlsson A. Brain Res., 85, 491—509, 1975.
7. Carlsson A.—In: Proc. Eur. Soc. Neurochem. 2nd Meet. ESN. Göttingen, 1978, 266—270, Weinheim—New York, 1978.
8. Hedner T., Lundborg P. Neurosci Lett., 19, 3, 315—318, 1980.

9. Москвитина Т. А.—В кн.: Современные методы в биохимии (под ред. В. Н. Ореховича), М., Медицина, с. 22—26, 1977.
10. Горкин В. Э., Вережкина И. В., Гриднева Л. И., Жердева Л. В. (Брусова), Кляшторин Л. Б., Кривченкова Р. С., Комиссарова Н. В., Леонтьева Г. А., Романова Л. А., Северина И. Б., Фейгина С. М.—В кн.: Современные методы в биохимии (под ред. В. Н. Ореховича), М., Медицина, с. 155—177, 1968.
11. Schacterle G. R., Pollack R. L. *Anal. Biochem.*, 51, 2, 654—655, 1973.
12. Yang H. Y., Neff N. A. *J. Pharmacol. and Exp. Ther.*, 187, 2, 365—371, 1973.
13. Горкин В. Э. Аминооксидазы и их значение в медицине, М., Медицина, 336 с., 1981.
14. Goroshinskaya I. A., Bronovlzkaya Z. G., Gorkin V. Z. *Communications in Psychopharmacology*, 1, 39—47, 1977.
15. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах, М., Наука, с. 206—207, 1972.

НИИ биологии при РГУ,
кафедра биохимии РГУ

Поступила 5.1 1982