

УДК 612.173.1.015.1:577.152.273

БИОХИМИЯ

Член-корреспондент АН Армянской ССР К. Г. Карагезян, Г. О. Меликсетян,
 З. С. Мкртчян, С. С. Овакимян, А. Р. Мартикян, Ж. И. Акопян

Участие фосфолипидов в регуляции
 активности креатинкиназы сердечной мышцы человека

(Представлено 14/III 1988)

Результатами исследований последних лет установлено, что центральную роль в процессе внутриклеточного транспорта энергии в мышцах, в регуляции энергетического метаболизма и сокращения сердечной мышцы играет креатинфосфат—креатинкиназная система (1-3). В связи с этим заслуживает внимания изучение закономерностей влияния различных метаболитов на регуляцию активности креатинкиназы (КК).

Фосфолипиды, составляющие преобладающую часть липидов биологических мембран, выступают не только в роли факторов, участвующих в структурной организации этих образований, но выполняют также важную в функциональном отношении миссию. Они фигурируют как соединения, создающие определенное липидное окружение, характерное своей гидрофобностью, имеющей важнейшее значение в регуляции физико-химических свойств белков клеточных мембран, что обуславливает изменение активности многочисленных мембраносвязанных липидзависимых ферментов (4-6). Имеющиеся литературные данные свидетельствуют о роли фосфолипидов как аллостерических эффекторов для некоторых ферментов (4-6), а также не исключают возможности их прямого участия в качестве коферментов или специфических кофакторов ферментов (7-8).

Известно, что на мембранах митохондрий КК связывается с кардиолипином, и активность КК может регулироваться в результате обратимого связывания с ним. Поскольку изоферменты КК функционально идентичны (1-2), то представляется интересным исследование влияния фосфолипидов на каталитические свойства цитозольной ММ (мышечной) КК из сердца человека, тем более, что сведения о влиянии фосфолипидов на функциональные показатели сердечно-сосудистой системы и сократительную способность миокарда весьма малочисленны.

Выделение и очистку ММ КК проводили по методу (9). Активность фермента в обратной реакции определяли колориметрическим методом (10).

Как явствует из данных, приведенных на рис. 1, фосфатидилинозитол, фосфатидилхолин и лизофосфатидилхолин оказывают ингибирующее действие на активность КК, степень которого зависит от концентрации фосфолипидов и достигает 80—100% от исходной актив-

ности. Примечательно, что фосфатидилхолин ингибирует фермент в концентрациях, значительно меньших, чем лизофосфатидилхолин и фосфатидилинозит. Для выяснения специфичности действия необходимы более детальные кинетические исследования, что входит в наши дальнейшие планы.

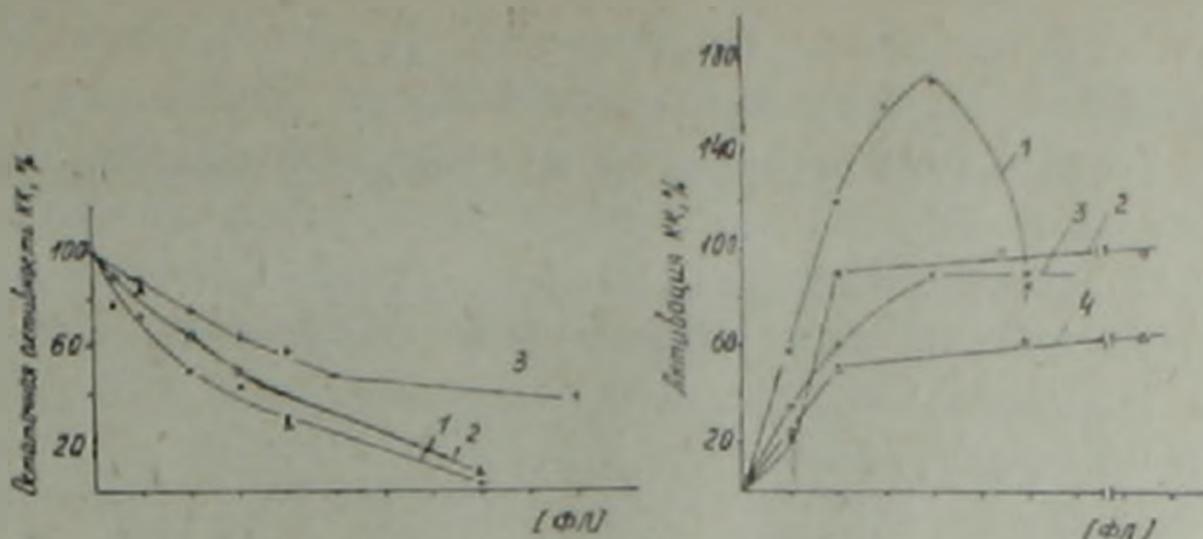


Рис. 1. Концентрационная зависимость ингибирующего действия фосфолипидов на активность КК: 1—фосфатидилинозитол (диапазон концентраций в инкубационной смеси 2×10^{-5} — 1×10^{-4} М); 2—лизофосфатидилхолин (8×10^{-6} — 2×10^{-4} М); 3—фосфатидилхолин (7×10^{-5} — 2×10^{-3} М)

Рис. 2. Концентрационная зависимость активирующего действия фосфолипидов на активность КК: 1—фосфатидная кислота (диапазон концентраций в инкубационной смеси 1×10^{-3} — 8×10^{-2} М); 2—фосфатидилсерин (6×10^{-4} — 3×10^{-2} М); 3—кардиолипин (1×10^{-3} — 6×10^{-1} М); 4—фосфатидилдипальмитонил (9×10^{-6} — 9×10^{-1} М)

Данные рис. 2 свидетельствуют об активирующем действии на КК фосфатидной кислоты, кардиолипина, фосфатидилсерина и фосфатидилдипальмитонла. Интересно заметить, что в случае фосфатидной кислоты активность фермента повышается до 170%, кардиолипина и фосфатидилсерина до 90—100%, а фосфатидилдипальмитонла до 60%.

Поскольку КК является диссоциирующей ферментной системой

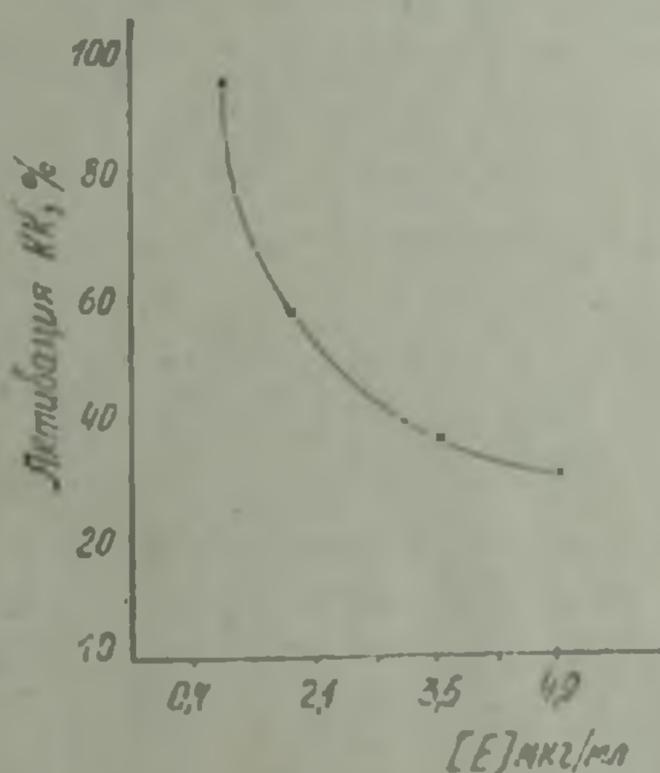


Рис. 3. Зависимость активирующего действия фосфатидной кислоты от концентрации КК. Концентрация фосфатидной кислоты— 3×10^{-3} М

(¹), то можно предположить, что фосфолипиды, по-видимому, смещают динамическое равновесие $MM \rightleftharpoons M+M$ в сторону образования более активных мономерных форм. С целью подтверждения высказанной мысли были предприняты специальные исследования по изучению влияния фосфатидной кислоты на активность КК, использованной в разных концентрациях. Результаты, представленные на рис. 3, показывают, что в случае малых концентраций фермента, при достаточной степени вероятности смещения динамического равновесия в сторону мономеров, активирующее действие фосфатидной кислоты оказывается намного сильнее. По всей вероятности, присутствие фосфолипидов ускоряет процесс образования кинетически более активных мономерных форм. Не исключена также возможность существования на молекуле фермента аллостерических участков, через которые и осуществляются связывание фосфолипидов и реализация их ингибирующего или активирующего действия.

Сложность в детализации и интерпретации полученных результатов с позиции освещения механизмов действия фосфолипидов как аллостерических эффекторов состоит в отсутствии детальных кинетических исследований, которые оказались бы принципиальными в объяснении природы взаимодействия фосфолипид—креатинкиназа.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Армянской ССР

ՀԱՅԿ ՎԱՐՊՔԱԿԻԳ ԱՆԳՈՒՄ Կ. Գ. ՂԱՐԱԿՅՈՋՅԱՆ, Գ. Հ. ՄՆԸԲՍԵՆՔՅԱՆ,
Չ. Ս. ՄԿՐՏՉՅԱՆ, Ս. Ս. ՀՈՂԱԿՈՄՅԱՆ, Հ. Ռ. ՄԱՐՏԻՐՅԱՆ, Ճ. Ի. ՀԱԿՈՐՔՅԱՆ

Ֆոսֆոլիպիդների մասնակցությունը մառդու սրտամկանի
կրեատինկինազի ակտիվության կարգավորման գործում

Կրեատինկինազի համասեռ պատրաստուկների վրա ցույց է տրված, որ ֆոսֆատիդիլինոզիտոլը, ֆոսֆատիդիլսոլինը, լիզոֆոսֆատիդիլսոլինը ճրնշում են ֆերմենտի ակտիվությունը 80—100%-ով: Ֆոսֆոլիպիդների մեկ այլ խումբ՝ ֆոսֆատիդաթթուն, ֆոսֆատիդիլսերինը, կարդիոլիպինը և ֆոսֆատիդիլսոլին-դիպալմիտեոլը—բարձրացնում է ֆերմենտի ակտիվությունը 20—160%-ով: Ընդ որում այդ բարձրացումը կախված է ինչպես ֆոսֆոլիպիդների խտությունից, այնպես էլ՝ ֆերմենտի:

ЛИТЕРАТУРА—ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ В. А. Сакс, Усп. биологии и химии, т. 24, с. 40—64 (1983). ² Т. Ю. Липская, Биол. науки, т. 9, с. 5—15 (1986). ³ S. P. Bessman, W. C. T. Yang, P. Glier, с. а., Biochem and biophys Res Comm., v. 96, p. 448—452 (1981). ⁴ Биоксиданты и регуляции метаболизма в сердце и патология, Наука, М., 1982. ⁵ Мюннозит и фосфоинозитиды, Наука, М., 1987. ⁶ С. С. Cunningham, L. P. Hager, J. B. S., v. 24⁶, № 6, p. 1575—1582 (1971). ⁷ X. Микелсаар, И. И. Северина, В. И. Скулачев, Усп. совр. биологии, т. 78, № 3 (6) (1974). ⁸ В. Г. Булгаков, А. А. Моргунов, М. В. Блещко, Бюлл. эксп. биологии и медицины, № 2, 1987. ⁹ Г. О. Меликсетян, З. С. Мкртчян, Ж. И. Акопян, Вопр. мед. науки, № 2, с. 112—116, 1987. ¹⁰ А. И. Еппор, H. Rosenberg, Biochem. J., v. 51, p. 606—610 (1952). ¹¹ Г. А. Невинский, В. Н. Анкилова, О. И. Лаврик и др., Биохимия, т. 48, № 2, с. 339—349 (1983).