

Влияние альфа-кетоглутарата на окисление сукцината и Ca^{2+} -динамику в митохондриях сердца

Г.Г. Саакян, И.Р. Саакян, Л.Ф. Шердукалова

*Институт хирургии “Микаелян”,
0052, Ереван, ул. Асратяна, 9*

Ключевые слова: митохондрии сердца, Ca^{2+} -регуляция, сукцинат, α -кетоглутарат, трансаминирование

Ca^{2+} -сигнал посылается митохондриям от экстраклеточных Ca^{2+} -сигналов. Важно отметить, что сигнал поступает не непрерывно, а циклически, в зависимости от функциональных стимулов: реципрокных гормонов и циклических нуклеотидов, сАТФ/сGTP [10, 12, 17], сокращения-расслабления мышц [6, 7, 17, 23]; он инициирует циклическую активацию Ca^{2+} -чувствительных митохондриальных ферментов, ионных каналов, предупреждает перегрузку Ca^{2+} [7, 8, 10, 15, 17]. Допускается, что митохондрии имеют свои системы Ca^{2+} -контроля [17, 18]. В качестве таковой мы рассматриваем феномен трансаминирования (ТА), принимая во внимание чувствительность к изменению концентрационных соотношений, участвующих в ТА субстратов, α -кетоглутарата (α -КГЛ) и глутамата (ГЛУ), и активность сукцинатзависимого (СЗ) накопления Ca^{2+} в митохондриях [3, 4, 20]. В работе приводятся данные по изучению указанного феномена в митохондриях сердечной мышцы в норме и условиях патологии сердца.

Материал и методы

Использовались сердца интактных животных (собаки, кролики, крысы), из которых выделяли митохондрии [1] или изготавливали (у крыс линии Вистар) гомогенаты [3]. Исследовали состояния с гипоксией/ишемией миокарда в острой и хронической стадиях. Модель 1 вызывали у собак (массой 10-16 кг) путем перфузии сердца донорской кровью (с объемной скоростью 60 мл/мин на 1 кг массы, 30-40 мин, $T=30^{\circ}\text{C}$). Собак распределили в три группы: контрольную (без каких-

либо осложнений) – *а*, группу с развитием гемацидоза и спонтанной фибрилляции – *б* и/или остановки сердца – *в*. Модель 2 (теофиллин-адреналиновый миокардит) вызывали у кроликов (массой 3-3,5 кг) [5]. Часть из них лечили α -КГЛ: ежедневно в течение первых и последних 12 дней (с интервалом между ними в 10 дней) патологии в краевую вену уха вводили раствор Na соли α -КГЛ (рН 7,4) по 50 мг на 1 кг массы. Контролем служили кролики без миокардита и с таковым без терапии α -КГЛ. Измеряли (под наркозом) показатели силы сокращения (max систолического – СД и конечного диастолического давления – КДД) в левом желудочке. Затем сердце и печень быстро извлекали и переносили в буферную смесь на льду. В модели 1 исследовали фосфорилирующее окисление, в модели 2 – флуоресценцию NADH митохондрий и ультраструктуру кардиомиоцитов. Учитывали падеж животных.

Митохондриальные функции измеряли с помощью следующих методов: *дыхание* – полярографическим способом с помощью платинового электрода; *скорость синтеза АТФ* – по убыли H^+ (защелачивание среды) с помощью водородного электрода. Ввели также новый тест для оценки эффективности синтеза АТФ, как отношение скорости убыли H^+ к скорости стационарного уровня рН; *окислительно-восстановительное превращение NADH* – по его флуоресценции (366-450 нм); *поглощение Ca^{2+}* – по противофазному изменению H^+/Ca^{2+} обмена с помощью H^+ -электрода. $CaCl_2$ добавляли порциями до спонтанного выброса из митохондрий. Сумма поглощенных катионов характеризует Ca^{2+} -емкость.

Ультраструктуру кардиомиоцитов изучали с помощью электронного микроскопа ЭВМ-100 ЛМ при ускоряющем напряжении 75 кВ.

В качестве субстрата окисления использовали сукцинат в различной комбинации с α -КГЛ, ГЛУ, оксалоацетатом (ОАА), фосфоенолпируватом (ФЕП), малатом – природными источниками ОАА, ингибиторами активности трансаминаз –сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и α -кетоглутаратдегидрогеназы (α -КГЛДГ), аминоксиацетатом (АОА), малонатом и арсенитом соответственно. Состав сред инкубации для тканевых препаратов, а также концентрация добавленных субстратов и активаторов дыхания (ADP, 2,4-динитрофенола – DNP) указаны в подписях к рисункам. Измерения проводили в течение не более 30-40 минут с момента получения препаратов при 23°C. Белок измеряли методом Лоури. Результаты обрабатывали по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Представлены результаты по дозозависимому притормаживающему влиянию α -КГЛ на окисление сукцината, поддерживаемое им дыхание (табл. 1), уровень NADH (рис. 1) и Ca^{2+} -емкость (рис. 2, табл. 2) в митохондриях и гомогенатах сердечной мышцы. Приведены сравнительные данные по влиянию субстратов ТА, α -КГЛ и ГЛУ на вышеуказанные СЗ реакции.

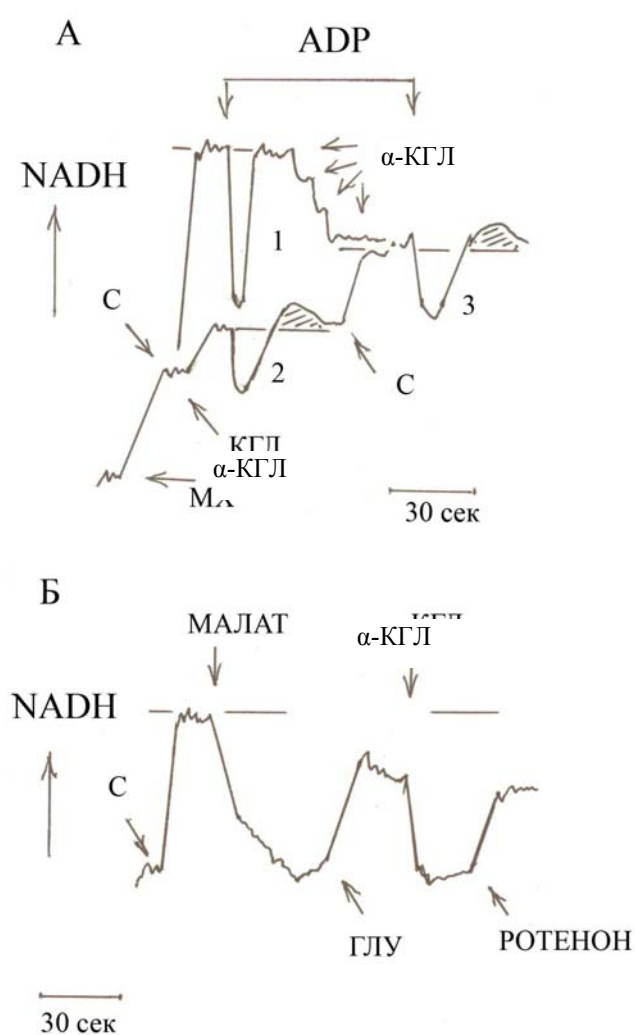


Рис. 1. А – притормаживающее действие α -кетоглутарата (α -КГЛ) на поддерживаемый окислением сукцината (С) уровень NADH в митохондриях

сердца; Б – смена между окислением-восстановлением NADH во взаимодействии с накоплением-убылью оксалоацетата в митохондриях сердца.

Условия инкубации: среда инкубации общим объемом 1 мл содержит: сахарозы 250 мМ, KCl 60 мМ, KH_2PO_4 1,5 мМ, Tris-буфера 1,5 мМ, pH 7,4. А – митохондрии из сердца собаки. Флуоресценция NADH на сукцинате (С) 4 мМ (1), α -КГЛ 6 мМ (2), сукцинате и α -КГЛ (3). Последовательно, после обратимого восстановления NAD (на воздействие ADP), добавлено: α -КГЛ по 3мМ четыре раза для (1), сукцинат 4 мМ (для 2) и ADP (для 1 и 2), что соответствует кривой (3). Везде ADP 200 мкМ; Б – митохондрии из сердца кролика. Последовательно добавлено: сукцинат 4 мМ, малат, ГЛУ, α -КГЛ по 6 мМ и ротенон 2 мкМ

Таблица 1

Ограничение α -кетоглутаратом дыхания на сукцинате в митохондриях интактного сердца собаки

Субстрат окисления, мМ	Скорость дыхания в метаболических состояниях, нмоль O_2 /сек на мг белка. Прирост дыхания, %				Показатели сопряженности	
	V_2	V_{ADP}	V_4	V_{DNP}	$\text{ДК} - V_3 / V_4$	P/O
1. С 4, (n=9)	$2,4 \pm 0,1$ 100%	$7,6 \pm 0,28$ +217	$2,6 \pm 0,14$ +4	–	2,9	2,2
2. С+ ГЛУ 2, (n=8)	$*2,7 \pm 0,1$ +12	$8,2 \pm 0,45$ +242	$2,9 \pm 0,1$ +21	$9,7 \pm 0,4$ +304	2,9	2,5
3. С+ α -КГЛ 3, (n=7)	$*2,1 \pm 0,14$ – 13	$6,2 \pm 0,25$ +158	$2,0 \pm 0,2$ – 17	$7,1 \pm 0,3$ +196	3,0	3,0
4. С+ α -КГЛ 6, (n=7)	$*1,7 \pm 0,07$ – 29	$4,9 \pm 0,5$ +100	$1,6 \pm 0,06$ – 33	$6,5 \pm 0,1$ +171	3,1	3,9
5. С+ α -КГЛ 9, (n=5)	$*1,3 \pm 0,01$ – 46	$4,6 \pm 0,12$ +86	$1,2 \pm 0,05$ – 50	$5,1 \pm 0,2$ +113	3,8	4,0
6. α -КГЛ 6/9, (n=9)	$*1,2 \pm 0,05$ – 42	$4,9 \pm 0,26$ +104	$1,2 \pm 0,01$ – 46	$5,2 \pm 0,1$ +116	4,1	4,1

7. ГЛУ 6, (n=9)	*1,3 ± 0,05 – 46	4,9 ± 0,05 + 104	1,3 ± 0,05 – 42	–	3,8	3,6
--------------------	------------------------	---------------------	--------------------	---	-----	-----

Примечание. Условия инкубации те же, что на рис.1. Скорости дыхания на добавленном сукцинате 4 мМ (1), сукцинате и ГЛУ 2 мМ (2), сукцинате и α-КГЛ по 3, 6 и 9 мМ (3, 4 и 5), α-КГЛ 6/9 мМ (6) и ГЛУ 6 мМ (7). Везде ADP по 200 мкМ, 2,4-динитрофенол (DNP) по 30 мкМ. Субстраты добавлены до внесения в среду (по 1,35 мг) белка митохондрий (МХ). Прирост дыхания соотнесен к скорости дыхания на добавленном сукцинате, принятой за 100%.

*p = 0,01 к скорости дыхания на добавленном сукцинате

Табл. 1 демонстрирует *притормаживающее действие α-кетоглутарата на поддерживаемое окислением сукцината дыхание и уровень NADH в митохондриях сердца у собаки*. Видно, что α-КГЛ последовательно (с нарастанием дозы от 3 до 6/9 мМ) притормаживает дыхание на сукцинате в состоянии без активатора и стимуляции ADP и DNP, приближая его к уровню дыхания при моноокислении α-КГЛ; усиливает сопряжение дыхания с накоплением энергии, что выражается относительно к сукцинату повышением показателей дыхательного контроля (ДК) на 31% и P/O на 81%. В отличие от α-КГЛ, ГЛУ активирует окисление сукцината без заметного изменения значений P/O и ДК (табл.1 [3, 4]). Заметим, что значения ДК и P/O при окислении только ГЛУ одинаково с α-КГЛ высокие. Сходное дыханию ограничение α-КГЛ видим по другим СЗ реакциям (см. ниже).

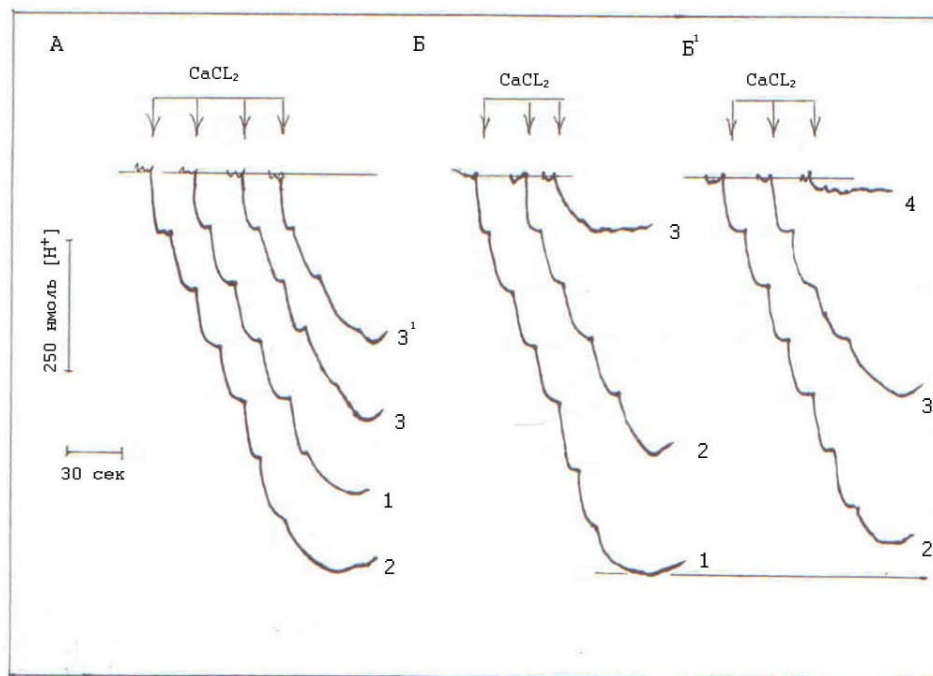


Рис. 2. Притормаживающее действие α -кетоглутарата и оксалоацетата на поддерживаемое окислением сукцината поглощение Ca^{2+} в митохондриях сердца собаки. Обращение торможения глутаматом, углубление аминоксинацетатом.

Среда инкубации: общий объем 2 мл. Представлена Ca^{2+} -емкость на добавленном: А – сукцинате 4мМ (1), сукцинате и α -КГЛ 3 мМ или ОАА 1,5 мМ (2), сукцинате и α -КГЛ 6мМ или ОАА 3 мМ (3); Б, Б¹ – на добавленных сукцинате, α -КГЛ 6 мМ и ГЛУ 10 мМ (1), сукцинате, α -КГЛ 6 мМ, ГЛУ 10 мМ и АОА 2 мМ (2), сукцинате, α -КГЛ 6 мМ, ГЛУ 10 мМ, АОА 2мМ, малонате 2 мМ и арсените 1 мМ (3)

Таблица 2

Ограничение α -кетоглутаратом и фосфоенолпируватом стимулированного глутаматом накопления Ca^{2+} на сукцинате в митохондриях сердца у животных (крысы, кролики). Торможение накопления Ca^{2+} аминоксинацетатом(АОА) и малонатом

	Ca^{2+} -емкость, нмоль H^+ на мг белка
	Субстрат окисления, мМ

Препарат	1. С4	2. С + ГЛУ1	3. С+ГЛУ1	4. С+ГЛУ10	5. С+ ГЛУ10 +АОА 2	6. С+ГЛУ10 +АОА 2+малонат2
Гомогенат сердца крысы (n = 11)	203 ± 25	*389 ± 15 100%	+ α-КГЛ10			
			251 ± 24 - 32	*329 ± 15 - 16	187 ± 20 - 52	*99 ± 5 - 74
			+ФЕП1			
			248 ± 28 - 36	*344 ± 28 - 9	184 ± 17 - 53	*89 ± 7 - 77
МХ сердца крысы (n = 2)	-	314 100%	180 - 43	-	113 - 64	-
МХ сердца собаки (n = 9)	137 ± 7	*241 ± 7 100%	+ α-КГЛ6			
			159 ± 13 - 34	*215 ± 5 - 11	127 ± 3 - 53	*42 ± 6 - 83
			+ФЕП1			
			147 ± 4 - 39	*239 ± 3 - 1	119 ± 7 - 51	*37 ± 2 - 85

Примечание. % соотношен к Ca^{2+} -емкости на добавленном сукцинате и глутамате (С+ГЛУ), (принятой за 100%), для 3, 4, 5 и 6 (вторые строчки). Условия инкубации те же, что на рис. 2.

* $p = 0,01$ к Ca^{2+} -емкости на добавленном сукцинате

Из данных рис.1 А видно, что α-КГЛ дозозависимо уменьшает (32-38%) поддерживаемый окислением сукцината уровень флуоресценции NADH, изменяет характер обратимого (на воздействие ADP) превращения NAD, приближая к таковому для моноокисления α-КГЛ (короткая амплитуда, замедленная фаза, некоторая избыточность восстановления). Данными рис. 1 Б представлена ритмическая смена восстановления –окисления NADH на сукцинате в ответ на последовательное внесение в среду малата, ГЛУ, α-КГЛ и ротенона, где ГЛУ восстанавливает вызванное малатом окисление NADH, α-КГЛ отменяет это действие, ГЛУ – окисляет NADH, что обращается ротеноном. Очевидно соответствие между колебанием уровня NADH и таковым (отводом- генерацией) эндогенного ОАА.

Рис. 2 демонстрирует *притормаживающее действие α-кетоглутарата на поддерживаемое окислением сукцината поглощение Ca^{2+} . Имеется сходство во влиянии на поглощение Ca^{2+} α-кетоглутарата, фосфоенолпирувата и оксалоацетата.* Из данных рис. 2 видно также, что

α -КГЛ дозозависимо уменьшает (17-39%) СЗ накопление Ca^{2+} и сокращает время удержания катиона в митохондриях сердца. Это действие для 3 и 6 мМ α -КГЛ сходно с таковым для 1,5 и 3 мМ ОАА, легко отменяется превышающими (9 мМ) дозами ГЛУ и подавляется под влиянием ингибиторов: АОА (46%), малоната+арсенита (93%).

Применение нового приема – изменения концентрационного соотношения ГЛУ и α -КГЛ в диапазоне 1 : 10 мМ, позволило выявить высокую чувствительность к этому изменению показателя Ca^{2+} -емкости в сердцах животных (табл. 2). Из данных табл. 2 следует, что Ca^{2+} -емкость при концентрационном преобладании (10 : 1) α -КГЛ над ГЛУ уменьшается

(34%), сходно действует и ФЕП. Тормозящее поглощение Ca^{2+} действие α -КГЛ, ФЕП и ОАА (рис. 2) избытком (10мМ) ГЛУ обращается. И последовательно углубляется в ряду ингибиторов: АОА (19%) и малоната (30%).

Торможение α -кетоглутаратом гиперактивации окисления сукцината и усиление сопряжения с накоплением энергии при нарушении функции сердца у собак. На рис. 3 сравниваются кривые дыхания (на сукцинате, сукцинате и α -КГЛ, сукцинате, α -КГЛ и ГЛУ) для митохондрий желудочков с разным течением перфузии сердца: неосложненной (а), после спонтанной фибрилляции (б) или остановки сердца (в).

Из данных рис. 3 явствует, что α -КГЛ притормаживает гиперактивное дыхание на сукцинате, ускоряет переход в отрегулированное состояние при фибрилляции и стимулирует дыхание при его спаде – остановке сердца. Тормозящее действие α -КГЛ на окисление сукцината отменяет ГЛУ.

Эффект курсовой терапии α -КГЛ при модельном миокардите у кроликов. Из данных рис. 4 видно, что терапия α -КГЛ приводит к росту выживаемости (от 0-40% до 100%), стабилизации сократительной функции миокарда (значение СД/КДД у леченой группы составило 120/1 против 91/7 в группе без лечения, в контроле = 0, $p=0,01$), нормализации амплитуды и фазы окислительно-восстановительного превращения NADH в митохондриях сердца и печени. В кардиомиоцитах замечены скопления мелких митохондрий вокруг активного ядра, множество рибосом, по сравнению с таковыми у нелеченых животных.

Проведенные исследования на митохондриях и гомогенатах мышцы сердца в норме и условиях патологии сердца у животных (табл. 1 и 2, рис. 1-3) подтверждают роль ТА в переключении окисления между субстра-

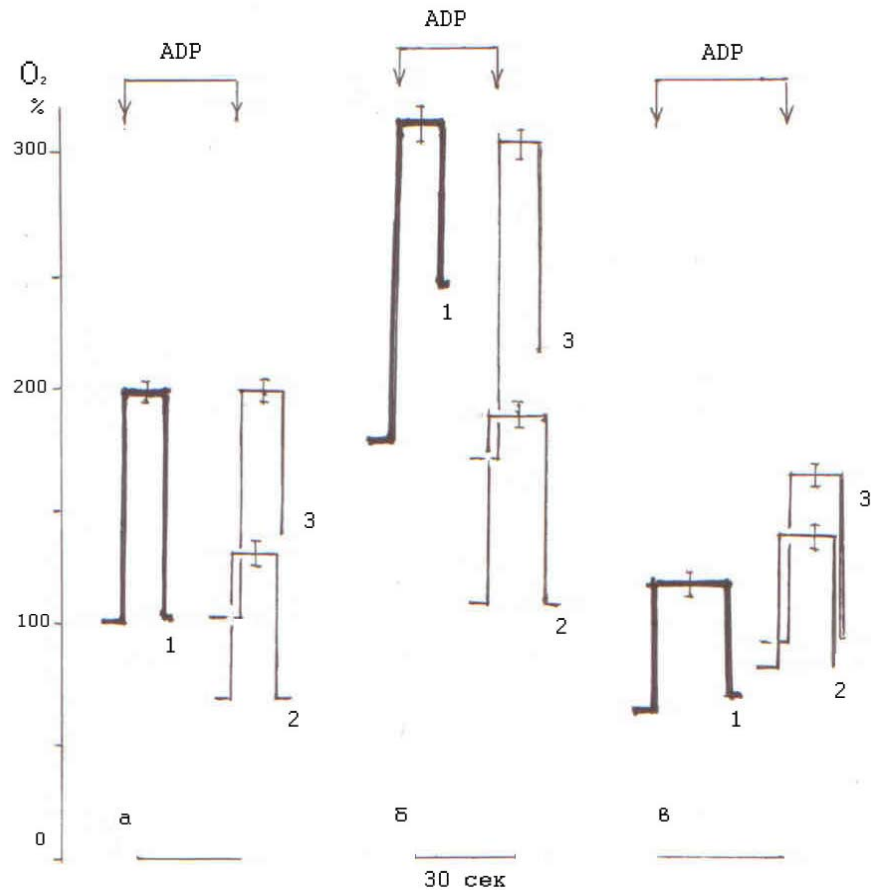


Рис. 3. Сопрягающее действие α -кетоглутарата на поддерживаемое окислением сукцината дыхание митохондрий желудочков в условиях фибрилляции и остановки сердца у собак.

Митохондрии из сердца собак. Перфузия сердца: без осложнений (в венозной крови: $pH=7,3$, $BE=2$, $PO_2=45$ и $HbO_2=63$ mmHg) (а); в условиях гипоксии/гемацидоза ($pH=7,27-7,0$, $BE= -5-11$, $PO_2=45-55$, $HbO_2=63-34$ mmHg) и фибрилляции желудочков (б) или остановки сердца (в). Везде (а, б, в) дыхание на добавленном сукцинате 4 mM (1), сукцинате и α -КГЛ 6 mM (2), сукцинате, α -КГЛ и ГЛУ 10 mM (3). Субстраты добавлены до внесения в среду (по 1,35 - 1,5 мг) белка митохондрий. Скорость дыхания на добавленном сукцинате в контроле (равная 3,0 нг-ат. O_2 /сек на мг белка) принята за 100%. Полярограммы – в виде диаграмм. Среда инкубации: см. рис 1.

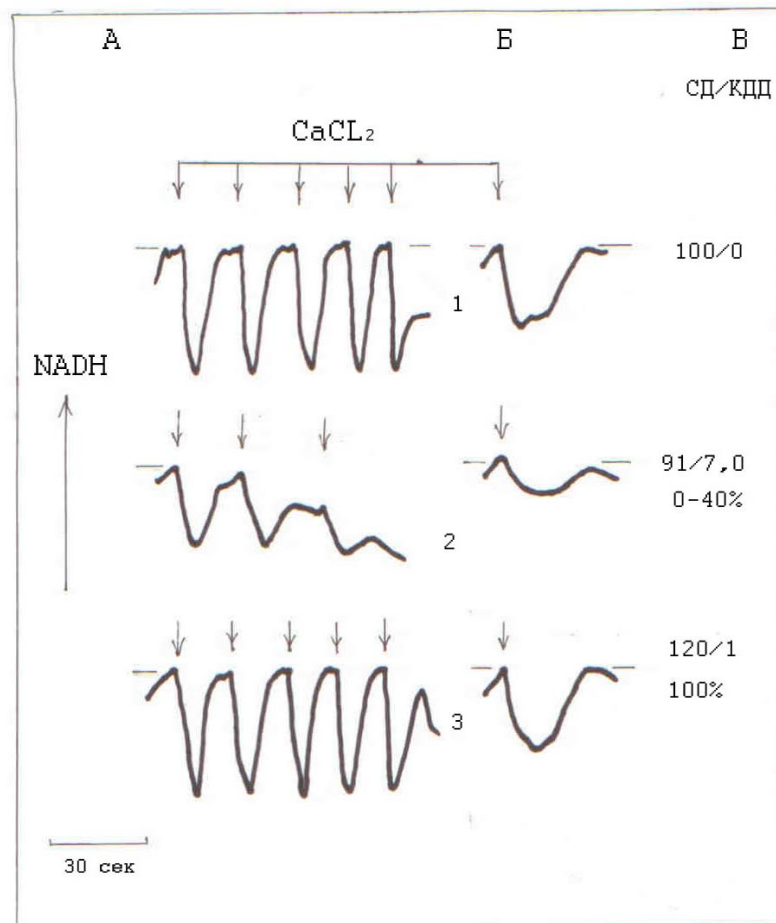


Рис.4. Эффект введенного α -кетоглутарата на метаболизм и функцию миокарда в организме при экспериментальном миокардите у кроликов

Митохондрии из сердца (А), печени (Б) кроликов: intactных (1), с миокардитом – без лечения (2) и терапией α -КГЛ (3). СД/КДД мм Нг и выживаемость % (В). Везде флуоресценция NADH на добавленном сукцинате 4 мМ с последовательным внесением CaCl_2 по 100 нмоль.

Среда инкубации: см. рис 1.

тами ЦТК, сукцинатом и α -КГЛ и, опосредовано, Ca^{2+} -динамики, представленной ранее [3, 4]. Важно отметить, что окисление сукцината и СЗ накопление Ca^{2+} под действием α -КГЛ и ГЛУ, субстратов, участвующих в ТА, изменяется реципрокно. При этом α -КГЛ дозозависимо притормаживает окисление сукцината, ГЛУ отменяет это торможение, что свя-

зывается с влиянием ОАА, его попеременным отводом-накоплением в реакции ТА. Это подтверждается данными по сходству в тормозящем окислении сукцината действия α -КГЛ с таковым ОАА, малата, ФЭП, эндогенных источников ОАА и вероятностью обращения, реактивации торможения ГЛУ, чувствительной к влиянию ингибитора активности трансаминаз – АОА (рис.1,Б, рис. 2, табл. 2 [4]).

Рассматриваемые в работе данные подтверждают, что сукцинат окисляется с большей интенсивностью, чем только α -КГЛ или ГЛУ – сходные по моноокислению, но реципрокные по влиянию на окисление сукцината (табл. 1 [3, 4]). *Показано, α -КГЛ дозозависимо притормаживает поддерживаемые окислением сукцината скорости дыхания без активатора и в присутствии ADP, DNP от 13 до 46% (табл.1), уровень NADH от 10 до 38% (рис.1), уменьшает Ca^{2+} -ёмкость от 17 до 38-43%, а также сокращает время удержания Ca^{2+} (рис.2) до характерного для моноокисления α -КГЛ уровня и усиливает энергетический контроль дыхания. Это выражается относительно к сукцинату – увеличением Р/О от 2,2 до 4,0 и ДК от 2,9 до 3,6 (табл.1); избыточным (после синтеза АТР) восстановлением NAD (рис.1); четким оперативным переходом от активного защелачивания среды к стационарному уровню рН с превышением ($21 \pm 6,0$) значения отношения их скоростей над Р/О ($4,0 \pm 0,1$); ограничением накопления - удержания Ca^{2+} (рис. 2, табл. 2). Повидимому, все эти особенности действия α -КГЛ, могут указывать на повышение его вклада в окисление сукцината.*

Проведенные исследования показывают (рис. 3), что в условиях гемацидоза и гипоксии миокарда переход к доминирующему окислению α -КГЛ выражается обратимым (под влиянием ГЛУ) торможением гиперактивного дыхания на сукцинате, спровоцированного фибрилляцией, или слабой активацией (при спаде дыхания). Проявляется гомеостазирующее свойство метаболита. Гибкая смена субстратами ТА активации – торможения окисления сукцината подтверждает адаптивное значение этого феномена.

Известно, что общий пул и ток интермедиатов ЦТК адаптивно при сокращении мышц увеличиваются, а в покое – уменьшаются, но концентрации, неравномерные для отдельных интермедиатов ЦТК, для α -КГЛ и сукцината – реципрокные: истощению одного соответствует нарастание второго [14, 22]. Есть мнение, что сукцинат – «природное топливо» для активной работы, α -КГЛ – для отдыха [1].

В процессе активной работы анионы ЦТК выходят в цитозоль, включаются в разные циклы и вновь, альтернативными путями, по ветвям анаплеротической сети возвращаются на «круги своя»,

восполняют их убыль [16, 18, 19, 21, 24]. Как показано на примере напряженно работающего сердца, доставка малата из пирувата через маликэнзим [21] и отвод α -КГЛ (обходным маршрутом, через аспартаттрансаминазу [1, 8, 11]) прямо к α -КГЛДГ, компенсирует субстратный и энергетический дефицит, повышается показатель dP/dt [19, 21]. В то же время с ускорением притока α -КГЛ и активацией (под влиянием α -КГЛ и Ca^{2+}) α -КГЛДГ усиливается сигнал к утилизации α -КГЛ и накоплению сукцината.

Установлено, что α -КГЛ, в зависимости от концентрации притормаживает активность ферментов метаболизма ОАА, приводит к его удержанию в матриксе митохондрий и увеличению ингибирующего влияния на активность СДГ – к отмене окисления сукцината. Однако утилизация

α -КГЛ делает вероятным расходование ОАА и переключение, *доминирование в окислении сукцината.*

Итак, в роли «переключателя» окисления между сукцинатом/ α -КГЛ выступает субстрат ТА – ОАА, с присущим ему свойством взаимодействовать с активным центром реципрокных дегидрогеназ – СДГ [1] и α -КГЛДГ [13], вызывать их перемежающуюся (в унисон ТА – «водителю ритма») инактивацию с последующим накоплением, «автоматической заправкой» субстрата и усилением сигнала к окислению (самообновлению): “Eadem mutate resurgo” – *измененная, я воскресаю той же.*

Заметим, что α -КГЛ и сукцинат не антагонисты, напротив, как две составляющие одной метаболической системы они дополняют, потенцируют (по принципу «реципрокного альтруизма») действие друг друга. Ритмичность наполнения – окисления сукцината/ α -КГЛ, по-видимому, может влиять на Ca^{2+} -сигнализацию и формирование Ca^{2+} -ответов в митохондриях, т.е. стать механизмом увеличения концентрации и кинетики перемещения Ca^{2+} в систоле и уменьшения в диастоле [6, 7, 9] – основой гибкой и надежной работы сердца.

В работе показано (рис. 4), что корректирующее действие физиологических доз α -КГЛ сопряжено с новообразованием митохондрий кардиомиоцитов; с оптимизацией энергетического метаболизма в сердце и печени; стабилизацией сократительной функции миокарда: понижением КДД, повышением СД (нормализацией СД/КДД); уменьшением падежа животных.

Кардиогепатопротекторное свойство низких доз α -КГЛ, таковое и сукцината [2, 5], связываем с рецепторопосредуемым действием этих

метаболитов, направленным на устранение недостаточности метаболической регуляции.

Таким образом, реципрокное управление, трансаминирования потоками метаболитов ЦТК ответственно за *переключение* окисления между

α -КГЛ /сукцинатом (убыли - восполнения субстратов, инактивации-реактивации дегидрогеназ, отмены - возобновления окисления) и, опосредовано, за Ca^{2+} -динамику в митохондриях сердца в норме и условиях его патологии. Это управление основано на циклическом превращении (убыли-регенерации) ОАА в реакции ТА, свойстве ОАА взаимодействовать, вызывать попеременную инактивацию реципрокных дегидрогеназ (СДГ и α -КГЛДГ) и накопление - окисление субстрата. Через это управление усовершенствуется регуляция и координация направления Ca^{2+} -токов в митохондриях по пути, заданному энергетическими и сигнальными запросами клеток, сохраняется энергетический и Ca^{2+} -гомеостаз, что обеспечивает защиту миокарда от повреждений [4].

Допускаем, что трансаминирование является важным звеном в механизме поддержания циклической работы сердца. Это подтверждают регуляторные физиологические эффекты на введение в организм малых доз α -КГЛ (рис. 4) и/или сукцината [2, 5], внося вклад в изучение механизмов регуляции работы сердца на субклеточном уровне.

Поступила 18.03.11

α - կետոգլյուտարաթթվի ազդեցությունը սաթաթթվի օքսիդացման և Ca^{2+} -ի դինամիկայի վրա սրտի միտոքոնդրիումներում

Հ.Հ. Սահակյան, Ի.Ռ. Սահակյան, Լ.Ֆ. Շերդուկալովա

Ցույց է տրվել արանսամիեացման մասնակցությունը օքսիդացման պրոցեսներում՝ մասնավորապես թրթնջկաքացախաթթվի ազդեցության ներքո սրտամկանի միտոքոնդրիումներում նորմայում և ախտաբանական վիճակներում փոխադարձ դեհիդրոգենազների ակտիվության փոխարկմանը, սաթաթթվի ու α -կետոգլյուտարաթթվի միջև կուտակման-օքսիդացման հարաբերության փոփոխմանը: Տրանսամինացման սուբստրատները՝ գլյուտամինաթթուն և α -կետոգլյուտարաթթուն փոխադարձ ազդեցություն ունեն սաթաթթվից կախյալ շնչառու-

թյան ակտիվության և Ca^{2+} -ի կուտակման վրա: α -գետոգլյուտարաթթուն դոզակախյալ ձեով արգելակում է այդ ակտիվությունը և ուժեղացնում շնչառության էներգետիկ հսկումը, իսկ գլյուտամինաթթուն վերացնում է α -կետոգլյուտարաթթվի ազդեցությունը: α -կետոգլյուտարաթթվի ցածր կոնցենտրացիաները ազդակային ֆունկցիա են կատարում օրգանիզմում ֆիզիոլոգիական պրոցեսների ակտիվացման մեջ, կրճատում են կենդանիների անկումը: Քննարկվել է տրանսամինացման դերը Ca^{2+} -ի դինամիկայի կարգավորմանը և սրտի ցիկլիկ աշխատանքի պահպանմանը:

The influence of α -ketoglutarate on the succinate oxidation and Ca^{2+} -dynamics in heart mitochondria

H. G. Sahakyan, I. R. Saakyan, L.F. Scherdukalo

It is shown the participation of transamination in oxidative processes of switching activity of the reciprocal dehydrogenases by oxaloacetate and accumulation -oxidation between succinate and α -ketoglutarate in myocardial mitochondria of the animals in normal and pathological conditions. The substrates of transamination glutamate and α -ketoglutarate have influence, on the succinate-dependent respiration activity reciprocally: α -ketoglutarate has dose-dependent inhibitory effect on this activity and enhances energy control of respiration. On the other hand, glutamate neutralizes such effect of α -ketoglutarate.

It was elucidated that low concentrations of ketoglutarate performs signal function in activation of such physiological processes as energy production, biogenesis of mitochondria, contraction function of myocardium. The role of transamination in control of Ca^{2+} -dynamics and support of heart cyclic work is considered.

Литература

1. Кондрашова М.Н. Вopr. биол. мед. фарм. химии, 2002, 1, с.7-12.
2. Микаелян А.Л., Саакян И.Р., Шердукалова Л.Ф., Карапетян Т.Д. Эксп. клин. Гастро-энтер., 2006, 5, с. 82-85.
3. Саакян И.Р., Саакян Г.Г. Биомед. химия, 2006, 52(3), с.287-297.
4. Саакян Г.Г., Саакян И.Р. Биомед. химия, 2008, 54(6), 696-705.
5. Саакян И.Р., Шердукалова Л.Ф. Мед.наука Армении НАН РА, 2006, 4, с.63-65.
6. Beutner G., Sharma V.K., Lin L., Ryu S-Y., Dirksen R.T., Sheu S.-S. Biochim. Biophys. Acta, 2005, 1717, p.1-10.

7. *Chen X., Zharig X., Kubo H., Harris D.M., Mills G.D., Moyer J., Berretta R., Potts S.T., Marsh J.D., Houser S.R.* Circ. Res., 2005, 11, p.100-1017.
8. *Contrera, L. and Satrustegu, J.* J. Biol. Chem, 2009, 284, p.7091-7099.
9. *Denton R.M., McCormack J.G.* Annu. Rev. Physiol., 1990, p.52, 451-456.
10. *Duszyński J., Koziel R., Brutkowski W., Szczepanowska J., Zablocki K.* Biochim. Biophys. Acta, 2006, 1757, p.380-387.
11. *Fahien L.A., Komiotek E.N., MacDonald M.J., Fibich B., Mandic M.* J. Biol. Chem., 1988, 263(22), p.10687-10697.
12. *Fischmeister R., Castro L.R.V., Abi-Gerges A. et al.* Circ. Res., 2006, 13, p.816-828.
13. *Frank, R.A.W., Price, A.J., Northrop, F.D., Perham, R.N., Luisi, B.F.* J. Mol. Biol., 2007, 368, p.639-651.
14. *Gibala M.J., Gonzalez-Alonso J., Saltin B.* J. Physiol., 2002, 545(2), p.705-713.
15. *Gutierrez J., Ballinger S.W., Darley-Usmar V.M., Landar A.* Circ. Res., 2006, 99, p.924-932.
16. *Hakimi. P., Yang J., Casadesus G., Massillon D., Tolentino-Silva F., Nye C.K., Cabrera M.E., et al.* J. Biol. Chem., 2007, 282(45), p.32844-328455.
17. *Lee C-H., Kuo K-H., Dai J. and van Breemen C.* Can. J. Physiol. Pharmacol., 2005, 83, p.733-741.
18. *Ozaki T., Vamash T., and Ishiguro S.* (2011) Archiv Biochem. Biophys. 507(2), p.254-261.
19. *Russell R.R. and Taegtmeier, H.* Am. J. Physiol., 1991, 261(30), p.H1756-H1762.
20. *Saakyan I.R., Kondrashova M.N.* Mitochondrion, 2002, 1(6), p.525.
21. *Sack M.N.* Circ. Res., 2009, 104(6), p.717-719.
22. *Sharma N., Okere, I.C. Brunengraber D.Z., McElfresh T.A., King K.L., Sterk J.P., Hung H., Chandler M.P., Stanley W.C.* J. Physiol., 2005, 562(2), p.593-603.
23. *Shimamoto Y., Suzuki M., Ishiwata S.* Biochem. Biophys. Res. Commun., 2008, 366, p.233-238.
24. *Wu F., Yang F., Vinnakota K.C. and Beard D.A.* J. Biol. Chem., 2007, 82(34), p.24525-24537.