

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Артеменко Д. П., Бурый В. А., Владимирова И. А., Шуба М. Ф. Модификация метода одинарного сахарозного мостика // Физиол. журн.—1982.—28, № 3.—С. 374—380.
2. Бурый В. А., Гокина Н. И., Гурковская А. В. Электрические и сократительные свойства гладкомышечных клеток мозговых артерий // Физиол. журн. СССР.—1981.—67, № 6.—С. 1399—1403.
3. Бурый В. А., Гурковская А. В. Трансмембранные ионные токи в гладкой мышце легочной артерии // Бюл. эксперим. биологии и мед.—1980.—90, № 11.—С. 519—521.
4. Гокина Н. И. О природе электромеханической связи в гладких мышцах мозговых артерий // Физиол. журн.—1982.—28, № 2.—С. 219—224.
5. Гокина Н. И., Гурковская А. В., Шуба М. Ф. Исследование механизмов активации фазного и тонического сокращения гладких мышц мозговых артерий // Там же.—1983.—29, № 6.—С. 684—690.
6. Гурковская А. В. Влияние тетраэтиламмония на электрофизиологические свойства гладкомышечных клеток легочной артерии // Бюл. эксперим. биологии и медицины.—1977.—83, № 2.—С. 134—136.
7. Гурковская А. В. Электрические и сократительные свойства бедренной артерии // Физиол. журн.—1987.—33, № 5.—С. 80—86.
8. Гурковская А. В., Шуба М. Ф., Бурый В. А. О природе электромеханической связи в гладкомышечных клетках легочной артерии // Физиол. журн. СССР.—1983.—69, № 8.—С. 1065—1071.
9. Fujiwara S., Ito Y., Itoh T. et al. Diltiazeminduced vasodilatation of the smooth muscle cells of the canine basilar artery // Brit. J. Pharmacol.—1982.—75, N 5.—P. 455—467.
10. Hirst G. D. S., Silverberg G. D., Helden D. F. Van The action potential and underlying ionic currents in proximal rat middle cerebral arterioles // J. Physiol.—1986.—371, Febr.—P. 289—304.
11. Karashima T., Kuriyama H. Electrical properties of smooth muscle cell membrane and neuromuscular transmission in the guinea-peg basilar artery // Brit. J. Pharmacol.—1981.—74, N 2.—P. 495—505.
12. Surprenant A., Neild T. O., Holman M. E. Membrane properties of rabbit basilar arteries and their responses to transmural stimulation // Pflügers Arch.—1987.—410, N 1/2.—P. 92—102.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца Материал поступил в редакцию 01.03.88
АН УССР, Киев

УДК 616—008.9:616.74:616—018

А. А. Мардашко, Р. Ф. Макушкин, Г. С. Попик

Метаболические особенности мышечной ткани сердца и бедра у крыс

Значительное количество энергии, необходимой для мышечного сокращения, получается в результате аэробного и анаэробного окисления углеводов, причем преимущественная роль каждого из них зависит от мышечной ткани [2] и условий, в которых находится организм [6]. Установлено, что лишь около 10 % образовавшегося в мышце лактата выводится током крови, а удаление лактата из мышц происходит главным образом за счет ресинтеза гликогена из лактата [15]. Однако до сих пор остается невыясненным вопрос о роли гликолитического субстратного фосфорилирования в энергообеспечении мышцы сердца и скелетных мышц и особенностях взаимосвязи терминального участка гликолиза, завершающего этапа цикла трикарбоновых кислот, и начального звена глюконеогенеза разных мышц, поскольку ката- и анаплеротические реакции мышечной ткани влияют на энергетический обмен всего организма [17] и играют значительную роль в его адаптационной перестройке. Поэтому целью нашей работы было изучение пути утилизации и ресинтеза фосфоенолпирувата — важного компонента гликолитического субстратного фосфорилирования, предшественника пирувата и лактата в тканях и в то же время одного из исходных продуктов глюконеогенеза, происходящего, в частности, в тканях миокарда и скелетных мышцах экспериментальных животных.

Опыты проведены на половозрелых белых крысах-самцах линии Вистар. Ткань сердца и переднюю группу мышц бедра гомогенизировали, подвергали дифференциальному центрифугированию и для энзиматических исследований использовали митохондрии и цитоплазму. Для определения содержания метаболитов ткани замораживали в жидком азоте и в дальнейшем использовали нейтрализованный тканевой экстракт [7, 14]. Активность пируваткиназы, лактатдегидрогеназы, фосфоенолпируваткарбоксикиназы и НАДФ-зависимой декарбоксилирующей малатдегидрогеназы (МДГ) определяли в цитоплазме, а НАД-зависимой МДГ — в митохондриях и цитоплазме спектрофотометрически [3, 4, 7, 12, 13—16]. Белок в пробах определяли биуретовым методом [3], изоферменты лактатдегидрогеназы в тканях — с помощью электрофореза в агаровом геле по описанной ранее методике [9]. Активность пируваткиназы, лактатдегидрогеназы и фосфоенолпируваткарбоксикиназы оценивали количеством распавшегося НАДН, рассчитанным на 1 мг белка пробы, за 1 мин инкубации; активность НАД- или НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы — количеством образовавшегося (прямая реакция) или распавшегося (обратная реакция) НАДН или НАДФН соответственно, рассчитанным на 1 мг белка пробы, за 1 мин инкубации. Содержание метаболитов оценивали количеством вещества (лактата, пирувата, малата, оксалоацетата), находящегося в 1 г ткани.

Результаты и их обсуждение

Скелетная мышца отличается высокой активностью гликолитических процессов и это находит свое отражение в активности ферментов, катализирующих реакции гликолиза, и содержании метаболитов. Определяя активность пируваткиназы тканей сердца и скелетных мышц, установили, что этот фермент почти в 2,9 раза активнее в скелетной мускулатуре, чем миокарде, что обуславливает различие активности лактатдегидрогеназы. В скелетных мышцах ее активность в 1,3 раза выше, чем в мышце сердца. Изоферментный спектр лактатдегидрогеназы миокарда крыс характеризуется высоким содержанием быстромигрирующих к аноду изоферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ) — ЛДГ₁ и ЛДГ₂. На их долю приходится 70 % ферментативной активности ЛДГ ткани этого органа. Значительно меньше содержится в ткани третьей фракции фермента, а количество ЛДГ₄ и, в особенности, ЛДГ₅ незначительно. Если ЛДГ₃ обеспечивает почти 25 % ферментативной активности ЛДГ в сердце, то ЛДГ₄ — около 5 % и ЛДГ₅ — до 1 %. Изоферментный спектр ЛДГ скелетных мышц представлен главным образом пятым изоферментом, составляющим почти 75 % общей активности ЛДГ в этой ткани. Активность этого фермента более чем в 5 раз превышает активность ЛДГ₄ и в 7 раз — ЛДГ₃. Содержание ЛДГ₂ и ЛДГ₁ составляет примерно 3 % и 1 % соответственно общей активности фермента. Если учесть, что быстромигрирующие изоферменты ЛДГ ингибируются небольшим количеством пирувата, и оптимально необходимое его количество для ЛДГ₁ почти в 10 раз ниже, чем для ЛДГ₅ [1, 5, 18], а также то, что пируваткиназная реакция, продуктом которой является пируват, в скелетных мышцах в несколько раз выше, чем в мышце сердца, становится понятным преимущественное накопление лактата в скелетной мускулатуре. Содержание пирувата в скелетных мышцах крыс лишь незначительно превышает таковое в миокарде, однако количество лактата достоверно выше в скелетных мышцах, чем в мышце сердца, в результате чего отношение лактат / пируват в сердечной мышце составляет 8,929, в то время как в скелетной — 10,021. Следовательно, если большая часть образующегося в скелетных мышцах пирувата идет на образование лактата, то в миокарде пируват, подвергаясь окислительному декарбоксилированию, вступает в реакции окисления цикла трикарбоновых кислот.

Интенсивность цикла трикарбоновых кислот, оцениваемая по НАД-зависимой малатдегидрогеназной реакции и содержанию метаболитов этой реакции, также различна в миокарде и скелетных мышцах. Преж-

де всего обращает внимание тот факт, что активность фермента, определяемая по образованию оксалоацетата (прямая реакция), значительно выше в миокарде, чем скелетных мышцах, причем большое значение имеют компартменты клетки, в которых определяется активность. Так, активность МДГ и в мышце сердца, и скелетных мышцах значительно выше в цитоплазме, чем в митохондриях. Изучение НАД-зависимой малатдегидрогеназной реакции в направлении оксалоацетат — малат (обратная реакция) показало, что общая закономерность соотношения

Таблица 1. Особенности метаболизма углеводов тканей миокарда и скелетной мышцы крыс ($M \pm m$)

Показатель	Скелетная мышца	Миокард
Активность ферментов в цитоплазме:		
пируваткиназы, $\text{мкмоль} \cdot \text{мг}^{-1} \times \times \text{мин}^{-1}$ (n=21)	$0,2823 \pm 0,0153$	$0,0968 \pm 0,0054$
	$P < 0,001$	
лактатдегидрогеназы, $\text{мкмоль} \times \times \text{мг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ (n=21)	$2,060 \pm 0,094$	$1,542 \pm 0,076$
	$P < 0,001$	
фосфоенолпируваткарбоксикиназы, $\text{нмоль} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ (n=21)	$56,544 \pm 1,978$	$17,726 \pm 1,151$
	$P < 0,001$	
Содержание метаболитов, мкмоль/г :		
лактата (n=10)	$3,327 \pm 0,165$	$2,768 \pm 0,191$
	$P < 0,05$	
пирувата (n=10)	$0,332 \pm 0,018$	$0,310 \pm 0,015$
	$P > 0,1$	

Примечание. Здесь и в табл. 2 n — число животных.

активности фермента этих мышц, а также отдельных компартментов клетки, выявленная для прямой малатдегидрогеназной реакции, сохраняется и для обратной реакции. Это прежде всего высокая активность фермента в миокарде по сравнению с таковой в скелетных мышцах, а гораздо выше она в цитоплазме, чем в митохондриях этих тканей, причем преимущественное повышение отмечено для скелетных мышц. Соотношение прямой и обратной реакций в митохондриях мышцы сердца и скелетных мышц приблизительно одинаковое, но в цитоплазме последних отчетливо проявляется преимущество обратной реакции над прямой по сравнению с таковой миокарда. Концентрация малата и оксалоацетата в тканях также различна. Содержание малата в ткани миокарда достоверно выше, чем в скелетных мышцах, так же, как и оксалоацетата.

Важное место во взаимопревращениях малата и пирувата занимает НАДФ-зависимая декарбоксилирующая малатдегидрогеназа, выполняющая связующую роль между реакциями гликолиза и цикла трикарбоновых кислот в обеспечении их метаболитами и переносе водорода от НАДН к НАДФ. Активность фермента, определяемая по превращению малата в пируват (прямая реакция) и пирувата в малат (обратная реакция), более выражена в миокарде и почти в 1,8 раза превышает таковую в скелетных мышцах, что свидетельствует о большей интенсивности окислительных процессов сердечной мышцы.

Фосфоенолпируваткарбоксикиназа, обеспечивающая утилизацию цитоплазматического оксалоацетата и превращение его в фосфоенолпируват, завершает начальный этап глюконеогенеза. Характерной особенностью является то, что активность фосфоенолпируваткарбоксикиназы в скелетных мышцах более чем в 3 раза превышает таковую в миокарде. Необходимо подчеркнуть, что фосфоенолпируваткарбоксикиназа активнее там, где активность НАД- и НАДФ-зависимых малатдегидрогеназ ниже, а активность пируваткиназы и лактатдегидрогеназы повышена. Иными словами, изучаемый фермент проявляет большую

активность в ткани, характеризующейся высокой интенсивностью гликолиза и низкой способностью к аэробному окислению. В подтверждение этого следует упомянуть, что печень, имеющая наибольшую активность фосфоенолпируваткарбоксикиназы и глюконеогенеза в целом [8], обладает большой способностью окислять углеводы по гликолитическому пути [10].

Таблица 2. Состояние реакций аэробного окисления углеводов тканей миокарда и скелетной мышцы крыс

Показатель	Скелетная мышца	Миокард
Активность НАД-зависимой малат-дегидрогеназы ($n=21$), $\text{мкмоль} \times \text{мг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$:		
в цитоплазме		
прямая реакция	$0,2480 \pm 0,0075$	$0,6030 \pm 0,0145$
обратная реакция	$1,752 \pm 0,095$	$2,146 \pm 0,125$
в митохондриях		
прямая реакция	$43,722 \pm 2,602$	$0,1413 \pm 0,0086$
обратная реакция	$65,876 \pm 2,803$	$0,2098 \pm 0,0131$
Активность НАДФ-зависимой малат-дегидрогеназы в цитоплазме ($n=21$), $\text{нмоль} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$:		
прямая реакция	$7,299 \pm 0,555$	$13,432 \pm 0,616$
обратная реакция	$11,945 \pm 0,566$	$21,407 \pm 1,189$
Содержание метаболитов ($n=10$):		
малата, мкмоль/г	$0,318 \pm 0,028$	$0,405 \pm 0,023$
оксалоацетата, нмоль/г	$31,935 \pm 1,726$	$43,896 \pm 1,965$

Известно, что существует конкуренция за использование образующегося в гликолизе НАДН между дегидрогеназами лактата и малата, причем соотношение активности малатдегидрогеназы и лактатдегидрогеназы играет важную роль в регуляции интенсивности аэробного и анаэробного обмена [11]. При высоком отношении МДГ/ЛДГ в цитоплазме развита шунтирующая функция малатдегидрогеназы, при низком — НАДН используется преимущественно для восстановления пирувата. От отношения митохондриальной и цитоплазматической форм малатдегидрогеназы зависит перенос восстановленных эквивалентов НАДН через митохондриальные мембраны, и чем ниже отношение малатдегидрогеназы цитоплазмы к малатдегидрогеназе митохондрий, тем эффективнее перенос. Кроме того, отношения лактат/пируват и малат/оксалоацетат характеризуют редокс-потенциал системы НАД/НАДН в цитоплазме клеток, который можно рассматривать как показатель оксигенации ткани, а отношение малат/пируват может характеризовать состояние редокс-системы НАДФ/НАДФН.

В миокарде лактатдегидрогеназа представлена быстросигрирующими изоферментами, которые в отличие от ЛДГ₅ чувствительны к ингибированию пируватом, лактатом и оксалоацетатом, т. е. в миокарде создаются условия для торможения окисления НАДФН пируватом в лактатдегидрогеназной реакции. Этому же способствуют более высокое отношение малатдегидрогеназа/лактатдегидрогеназа в цитоплазме миокарда (по сравнению с таковым скелетных мышц) и более низкое отношение цитоплазматическая МДГ/митохондриальная МДГ в мышце сердца. Кроме того, отношение лактат/пируват и малат/оксалоацетат ниже в миокарде, чем в скелетных мышцах и, следовательно, окислен-

ность системы НАД/НАДН выше в миокарде. Все это создает условия для окисления НАДН оксалоацетатом с образованием малата в мышце сердца и при этом образование лактата снижено. В скелетных мышцах, в противоположность миокарду, лактатдегидрогеназа не чувствительна к ингибирующему влиянию метаболитов, отношение МДГ/ЛДГ в цитоплазме клеток ниже, чем в миокарде, а отношение цитоплазматическая МДГ/митохондриальная МДГ значительно выше, так же, как и отношения лактат/пируват и малат/оксалоацетат. Все это приводит к тому, что конкуренция между малатдегидрогеназой и лактатдегидрогеназой за НАДН складывается в пользу лактатдегидрогеназы и создаются условия для интенсивного прохождения гликолиза.

Выводы

Миокард и скелетная мышца имеют ряд отличительных особенностей метаболизма углеводов, которые заключаются в большей интенсивности гликолитического субстратного фосфорилирования и терминального участка гликолиза скелетных мышц по сравнению с таковой миокарда.

Шунтирующая функция НАД-зависимой МДГ и активность НАД-зависимого звена цикла трикарбоновых кислот, так же, как и НАДФ-зависимой МДГ, выполняющей связующую роль между гликолизом и циклом трикарбоновых кислот, выше в миокарде животных.

Скелетные мышцы обладают большей способностью по сравнению с миокардом превращать цитоплазматический оксалоацетат в фосфоенолпируват, что коррелирует с интенсивностью гликолиза в них и восстановленностью редокс-системы никотинамидных коферментов.

A. A. Mardashko, R. F. Makulkin, G. S. Popik

METABOLIC FEATURES OF MUSCULAR TISSUE OF THE MYOCARDIUM AND FEMUR OF RATS

Myocardium and skeletal muscle of white rats have a number of specific features in metabolism of carbohydrates. The skeletal muscle is characterized by high intensity of glycolytic processes and glycolytic substrate phosphorylation, that is testified by the activity of the terminal glycolysis stage enzymes (pyruvate kinase, lactate dehydrogenase, its isoenzyme spectrum) and by the content of lactate and pyruvate metabolites. In contrast to skeletal muscles, the activity of NAD-dependent malate dehydrogenase in the myocardium is significant both in cytoplasm and in mitochondria. This activity corresponds to a high level of malate and oxaloacetate metabolites and to the activity of NADP-dependent malate dehydrogenase, playing a connective role between glycolysis, the cycle of tricarboxylic acids and glycogenesis. Phosphoenolpyruvate carboxykinase, catalyzing the transformation of cytoplasmatic oxaloacetate into phosphoenolpyruvate is more active in the skeletal muscles where the intensity of the tricarboxylic acids cycle reactions is lower and the activity of glycolysis is higher than that of myocardium.

N. I. Pirogov Medical Institute, Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Odessa

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты.— М.: Мир, 1966.—816 с.
2. Иванов И. И., Коровкин Б. Ф., Пинаев Г. П. Биохимия мышц.— М.: Медицина, 1977.—344 с.
3. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии.— М.: Высш. школа, 1971.—352 с.
4. Курпьянов В. В., Сеппет И. В., Емелин И. В., Сакс В. А. Стационарная кинетика пируваткиназы // Биохимия.— 1979.—44, № 1.— С. 104—115.
5. Левин А., Сикевич Ф. Структура и функции клетки.— М.: Мир, 1971.—583 с.
6. Меерсон Ф. З. Адаптация, стресс и профилактика.— М.: Наука, 1981.—278 с.
7. Методы биохимических исследований / Под ред. Прохоровой М. И.— Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982.— С. 166—168.
8. Мецлер Д. Биохимия.— М.: Мир, 1980.— Т. 2.—606 с.