УДК 577.158

АКТИВНОСТЬ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ, ПЕЧЕНИ И СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ КРЫС В УСЛОВИЯХ РАЗОБЩЕНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ

В. Н. Никандров

Белорусский научно-исследовательский ветеринарный институт, Минск, п/о Кунцевщина

(Поступила в редакцию 29.X 1973 г.)

Изучено влияние 1570 и 785 мг/кг 2-метил-4-хлорфенокси-γ-бутирата на активность малатдегидрогеназы (МДГ; l-малат : НАД-оксидоредуктазы, КФ 1.1.1.37) в головном мозге, печени и скелетных мышцах крыс. После введения 1570 мг/кг препарата отмечены активация свободной формы фермента при такой же направленности общей активности через 1 и 3 ч и угнетение связанной формы в головном мозге. В печени через 1 и 6 ч окисление малата угнетается при снижении активности связанной формы МДГ. 785 мг/кг препарата активируют фермент в головном мозге и печени через 1 ч после введения, вызывая уменьшение дегидрирования малата через 3 и 6 ч в головном мозге (уменьшение активности связанной формы) и печени (угнетение активности обеих форм МДГ). Ферментативная активность скелетных мышц изменяется незначительно.

Известно, что 2-метил-4-хлорфенокси-γ-масляная кислота вызывает выраженное разобщение окислительного фосфорилирования и несколько угнетает тканевое дыхание [1]. Это предполагает нарушение механизмов генерирования энергии в биосистемах. Одним из них является цикл трикарбоновых кислот, в частности реакция взаимопревращения малата и оксалацетата, катализируемая малатдегидрогеназой.

Целью настоящего исследования явилось изучение активности МДГ в органах и тканях белых крыс в условиях разобщения окислительного фосфорилирования, обусловленного введением 2-метил-4-хлорфенокси-γ-масляной кислоты.

Методика

Опыты были поставлены на 64 половозрелых гетерозиготных крысах линии Вистар, разделенных на группы по восемь животных в каждой. В первой серии опытов крысам трех опытных групп препарат вводили однократно в желудок в дозе 1570 *мг/кг* в виде 40%-ного раствора, и через 1, 3 и 6 ч после введения их декапитировали. Контрольные животные получали дистиллированную воду в соответствующем количестве. Опыты второй серии (животным этой группы препарат вводили в дозе 785 *мг/кг*) проводили аналогично. Извлекали головной мозг, печень и икроножные мышцы, отмывали их охлажденным до 0—4° С 0,25 *М* раствором сахарозы, pH 7,4, и гомогенизировали в 9-кратном объеме этого раствора. Скелетные мышцы перед гомогенизированием измельчали в мясорубке Латапи. Гомогенаты делили на две части, к одной добавляли раствор коммерческого препарата тритона Х-100 в конечной концентрации 1% (общая активность), а к другой — раствор сахарозы в соответствующем количестве (активность свободной формы). Через 10 *мин* полученные смеси разводили 0,25 *М* раствором сахарозы в соотношении 1 : 40 и в 0,1 *мл* разведенных гомогенатов определяли активность МДГ [2], которую выражали в микромолях пирувата на 1 *г* ткани. Для того, чтобы удельную активность выразить в микромолях пирувата за 1 *мин* на 1 *мг* белка, в гомогенатах определяли его содержание [3].

Результаты исследования обработаны статистически [4]; достоверными считали различия при $p<0,05$.

Таблица 1

Влияние 2-метил-4-хлорфенокси-γ-масляной кислоты в дозе 1570 *мг/кг* на активность МДГ в организме белых крыс
($M \pm m$; в *мкмолях* пирувата на 1 *г* ткани за 15 *мин*; $n=8$)

Время после введения, ч	Головной мозг			Печень			Скелетные мышцы		
	Общая	Свободная	Связанная	Общая	Свободная	Связанная	Общая	Свободная	Связанная
Контроль	1388±45	1083±36	305±42	1699±31	1421±15	278±42	1300±37	1078±15	224±28
1	1479±67	1285±78	193±17	1566±31	1432±62	110±22	1216±42	1005±33	210±33
p		<0,05	<0,05	<0,01		<0,01			
3	1507±73	1205±62	302±22	1625±50	1400±62	225±63	1379±38	1129±30	250±30
6	1066±18	971±47	95±36	1481±83	1400±82	80±22	1207±38	1160±43	47±11
p	<0,001		<0,01	<0,05		<0,001			<0,001

Таблица 2

Активность МДГ в тканях белых крыс при введении 2-метил-4-хлорфенокси-γ-масляной кислоты в дозе 758 *мг/кг*
(в *мкмолях* пирувата на 1 *г* ткани за 15 *мин*; $M \pm m$; $n=8$)

Время после введения, ч	Головной мозг			Печень			Скелетные мышцы		
	Общая	Свободная	Связанная	Общая	Свободная	Связанная	Общая	Свободная	Связанная
Контроль	1417±29	1081±33	336±22	1698±18	1478±47	219±42	1233±29	1077±18	157±30
1	1726±33	1528±56	173±32	1738±22	1647±27	98±18	1209±46	948±53	261±40
p	<0,001	<0,001	<0,001		<0,01	<0,02		<0,05	
3	1239±31	1071±46	172±23	1332±47	1271±47	62±10	1357±22	1157±42	200±49
p	<0,01		<0,001	<0,001	<0,01	<0,01	<0,01		
6	1273±35	1141±22	132±32	1238±62	1148±38	90±25	1260±40	1091±20	169±37
p	<0,01		<0,001	<0,001	<0,001	<0,02			

Результаты и обсуждение

На долю связанной МДГ приходится в среднем до 22% общей активности гомогенатов головного мозга, до 16% — печени и до 17,2% — скелетных мышц (табл. 1, 2).

Существование свободной и связанной форм фермента обусловливает, по-видимому, тонкую регуляцию интенсивности этой реакции в тканях. Препарат в дозе 1570 *мг/кг* в течение 3 ч обусловил некоторую активацию дегидрирования малата в головном мозге вследствие повышения активности свободной формы МДГ. В первый час этот эффект дополнялся также перераспределением активности между фазами клетки в сторону увеличения активности свободного фермента. К шестому часу дегидрирование малата в мозге подавляется в результате угнетения обеих форм МДГ.

В печени активность МДГ достоверно снижается через 1 ч, затем выравнивается и опять снижается, особенно резко — к шестому часу ($\approx$15% снижения активности). При этом значительно снижается активность связанной формы МДГ, достигая максимума также к шести часам.

В мышечной ткани активность фермента достоверно не изменяется. Лишь через 6 ч резко снижается (более чем в четыре раза) активность связанной формы фермента.

По характеру сдвигов МДГ-азной активности под влиянием препарата в дозе 785 *мг/кг* ткани можно разделить на две группы. В головном мозге и печени в первый час общая активность фермента повышается за счет активности свободной его формы; активность связанной формы снижена, но через 3 и 6 ч снижаются и общая активность фермента, и активность отдельных его форм.

Активность МДГ в скелетных мышцах изменяется мало. Однако в течение первого часа наступает перераспределение ее между фазами клетки в сторону увеличения сродства фермента к мембранам. К трем часам дегидрирование малата в мышцах после введения препарата в дозе 785 *мг/кг* интенсифицируется.

Изменения удельной активности были в подавляющем большинстве случаев однотипны описанным.

Отмеченное перераспределение активности МДГ между различными ее формами может быть связано с трансмембранным перемещением вследствие изменения проницаемости митохондриальных мембран либо высвобождением структурно организованного фермента из комплексов с липопротеидами.

Наблюдаемая в некоторых случаях фазность сдвигов активности МДГ может обусловливаться ингибированием фермента оксалацетатом (если затруднена его последующая трансформация), в избытке образующимся в процессе первоначальной активации окисления малата.

Более выраженные сдвиги активности МДГ при введении препарата в меньшей дозе нельзя сводить к проявлению стрессорного воздействия, ибо в меньшей дозе агент вызывает меньшие сдвиги глюкокортикоидной функции надпочечников [5]. Очевидно, подобные явления связаны с токсическим влиянием препарата в большей дозе на лабильные системы и исключением проявления биохимической адаптации либо с быстрым развитием изменений (большая доза) и невозможностью выяснить ранние проявления действия чрезвычайного фактора.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. Ю. Буслович, Ф. Д. Колдобская, С. В. Мараховская, «Биохимия», в. 1, Минск, 1973, 13.
2. M. Ševela, J. Tovarek, Cas. lek. ces., *99*, 1487, 1960.
3. O. H. Lowry, C. N. Rosebrough, A. L. Farr, R. Randall, J. Biol. Chem., *193*, 265, 1951.

4. И. П. Ашмарин, Н. Н. Васильев, В. А. Амбросов, Быстрые методы статистической обработки и планирование экспериментов, Изд-во ЛГУ, Л., 1971.
5. С. Ю. Буслович, Ф. Д. Колдобская, С. В. Мараховская, «Вопросы эндокринологии», Минск, 1972, 36.

ACTIVITY OF MALATE DEHYDROGENASE IN BRAIN, LIVER AND SKELETAL MUSCLES OF ALBINO RATS UNDER CONDITIONS OF OXIDATIVE PHOSPHORYLATION SEPARATION

V. N. Nikandrov

Research Veterinary Institute, Byelorussian SSR, Minsk, p/o Kuntsevshchina

Summary

The activity of malate dehydrogenase (MDH) (*l*-malate : NAD-oxydoreductase, EC 1.1.1.37) in the brain, liver and skeletal muscles of rats was studied as affected by 1570 and 785mg/kg of 2-methyl-4-chlorophenoxy-γ-butirate. 1 and 3 hrs after administration of 1570 mg/kg of the preparation the activation of the enzyme free form at the same direction of the total activity as well as inhibition of the bound form in the brain were observed. Oxidation of malate in the liver is inhibited with a decrease in the activity of the MDT bound form 1—6 hrs later. 785 mg/kg of the preparation activates the enzyme in the brain and liver 1h after administration, causing 3 and 6 hrs later a decrease in malate dehydrogenation in the brain (a drop in the activity of the bound form) and liver (inhibiton of the activity of MDH both forms.).

The changes in the enzymic activity of the skeletal muscles are insignificant.