

ЛЕНИНГРАДСКИЙ
ОРДЕНА ЛЕНИНА И ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

УДК 577.158

КИСЕЛЕВСКИЙ
ЮРИЙ ВАЦЛАЗОВИЧ

ХАРАКТЕРИСТИКА ПИРУВАТДЕГИДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСА
ИЗ СЕРДЦА ЧЕЛОВЕКА

03.00.04 - Биохимия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

ЛЕНИНГРАД 1990

Работа выполнена на кафедре биохимии Гродненского Государственного медицинского института и в лаборатории энзимологии и биотехнологии Института биохимии АН БССР

Научные руководители:

доктор биологических наук, профессор С.А.Струмило
кандидат медицинских наук, доцент Н.К.Лукашик

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук В.И.Муронец
кандидат биологических наук В.Е.Стефанов

Ведущая организация - Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова АН СССР, Ленинград

Защита диссертации состоится "___" _____ 1990 г.
в ___ часов на заседании специализированного Совета
К 063.57.09 по присуждению ученой степени кандидата
биологических наук при Ленинградском государственном
университете (199034, Ленинград, Университетская наб.7/9).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке
Ленинградского государственного университета.

Автореферат разослан

Ученый секретарь
специализированного Совета
доктор биологических наук

В.К.Павленко



0000241920

ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

лему. Пируватдегидрогеназный полифермент является важным метаболическим звеном,

связующим гликолиз с циклом трикарбоновых кислот и обменом липидов. Особенно значительна роль ПДК в биоэнергетическом обеспечении контрактильного акта сердечной мышцы, так как большое количество митохондрий и преимущественно аэробный тип метаболизма позволяют утилизировать через цикл Кребса не только пируват, образовавшийся в процессе гликолиза, но и лактат, доставляемый кровью из других органов (Мак-Муррей, 1980). Вместе с тем многосторонний метаболический контроль над функционированием этого сложного полиферментного комплекса является важным фактором регуляции обмена веществ и функции миокарда (Olson, 1989). Приобретающая эпидемический характер распространенность сердечно-сосудистой патологии предопределяет интерес и изучению свойств ПДК из миокарда человека.

Сравнительный анализ литературных данных убеждает в том, что имеются существенные различия в структуре, каталитических и регуляторных свойствах этого фермента из различных тканей одного и того же животного, а также из аналогичных тканей различных видов животных. Указания на подобные различия можно найти и в отношении других ферментов (Диксон, Уэбб, 1982). Если же исходить из конечной направленности научных исследований медико-биологической тематики на нужды медицины, то использование накопленных энзимологией сведений представляется затруднительным.

Известно, что ферменты претерпевают значительные изменения во время онтогенеза, особенно в его эмбриональную фазу (Хочачка, Сомеро, 1988). В раннем онтогенезе ферментам обычно присущи такие особенности, благодаря которым их каталитические свойства адекватно сочетаются с функционированием остальных ферментов и соответствуют насущным потребностям метаболизма вообще. Что же касается конкретно ПДК, то онтогенети-

Принятые сокращения: ПДК - пируватдегидрогеназный комплекс; ТДФ - тиаминдифосфат.

ческая эволюция его свойств остается к настоящему времени практически неизученной.

Кроме того следует отметить, что несмотря на многочисленные исследования, в которых сердечная патология моделируется на наиболее распространенном экспериментальном объекте - крысе, в литературе нет достаточно полной кинетико-регуляторной характеристики ПДК из сердца этого животного. Между тем информация о свойствах ПДК из сердца человека и сердца крысы может быть полезной для решения вопроса о правомерности экстраполяции результатов, полученных в экспериментах с использованием лабораторных животных, на область медицины.

Все вышеизложенное обуславливает актуальность и целесообразность изучения свойств ПДК из сердца человека на двух различных этапах онтогенеза, а также сравнительного сопоставления важнейших параметров этого полиферментного комплекса из миокарда человека и лабораторной крысы.

Цель и задачи исследования. В настоящей работе преследовалась цель изучить основные кинетические и регуляторные свойства ПДК из сердца человека и тем самым создать теоретические предпосылки для поиска путей целенаправленного воздействия на обмен веществ и биоэнергетическое обеспечение миокарда человека через пируватдегидрогеназный комплекс. Следующая цель - изучить особенности свойств ПДК сердечной мышцы человека на этапе эмбрионального развития. Кроме того, ставилась задача путем сравнительного сопоставления характеристик ПДК из сердца человека и лабораторной крысы оценить возможность непосредственной экстраполяции накопленных энзимологией и экспериментальной медициной сведений, связанных со структурой и функцией ПДК, на область практической медицины. Конкретная программа исследования включала следующие последовательные задачи:

- разработать метод выделения и очистки ПДК из сердца взрослого человека и эмбриона;
- получить и подвергнуть сравнительному анализу данные о структурной организации ПДК сердечной мышцы человека и животных;
- установить основные кинетические параметры ПДК сердечной мышцы взрослого человека, эмбриона и лабораторной крысы;

- исследовать пути и способы контроля активности ПДК сердечной мышцы человека.

Научная новизна и практическая ценность. Проведенное исследование позволило установить кинетико-регуляторные характеристики ПДК из миокарда человека. В сравнении с гомологичными ферментами тканей животных ПДК сердца взрослого человека характеризуется значительным сходством по структуре и физико-химическим параметрам, однако существенно отличается по кинетическим и некоторым регуляторным свойствам. В частности, в данной работе установлены существенные особенности свойств ПДК из сердца человека по сравнению со свойствами ПДК сердца лабораторной крысы, которая наиболее часто используется в биохимических экспериментах. Так, ПДК из сердца человека отличается от одноименного комплекса из сердца лабораторной крысы в 2,5 раза более высокими значениями K_m по пирувату и КоА, но в 2 раза более низким значением K_m по НАД.

При изучении зависимости активности киназы ПДК из сердца человека от концентрации АТФ выявлена никем ранее не отмечавшаяся особенность: кинетические признаки двух типов активных центров киназы с различным сродством к АТФ. Наряду с известными эффектами субстратов и коферментов показано ингибирующее действие тиаминтрифосфата на активность киназы ПДК. Установлено, что высокоочищенные препараты ПДК из сердца человека обладают способностью осуществлять неокислительное декарбоксилирование пирувата с образованием свободного ацетальдегида. Впервые показано, что фосфорилирование ПДК киназой не отражается на скорости образования ацетальдегида. Установлено также ингибиторное влияние ацетальдегида и олеиновой кислоты на активность ПДК из сердца человека.

В настоящей диссертационной работе впервые подвергнут детальному энзимологическому исследованию высокоочищенный препарат ПДК из сердца эмбриона человека. Установлено, что ПДК из эмбрионального источника отличается высокой диссоциабельностью составляющих его компонентов, а также наличием дополнительного типа субъединиц.

Обнаружен ряд кинетических особенностей ПДК из сердца эмбриона: он обладает гораздо меньшим кажущимся сродством к пи-

рувату и НАД по сравнению с аналогичным комплексом зрелого сердца. Кроме того, эмбриональный ПДК отличается кинетическими признаками положительной кооперативности центров, связывающих НАД.

Впервые установлены существенные отличия рН-зависимости и значений энергии активации ПДК из зрелого и эмбрионального сердца. Впервые получены данные о наличии у ПДК из сердца эмбрионов механизма фосфорилирования: комплекс из этого источника характеризуется высокой скоростью инактивации в присутствии АТФ. Получены новые данные о регуляции эмбрионального ПДК алдостарическими эффекторами: АМФ, фруктозо-1,6-дифосфатом, фосфоенолпируватом, гуанозинтрифосфатом и свободными жирными кислотами. Впервые показано, что эмбриональный ПДК сохраняет весьма устойчивую связь с тиаиндифосфатом (ТДФ) в процессе очистки. Исследован ряд новых синтетических производных тиамина в плане антикоферментной регуляции ПДК из сердечной мышцы.

Все это может служить теоретической основой для конкретных разработок путей целенаправленного воздействия на метаболизм и функцию миокарда человека. Знание онтогенетической эволюции кинетических и регуляторных свойств такой важной в метаболическом отношении полиферментной системы, как ПДК, представляется необходимым для разработки более совершенных методов диагностики и коррекции целого ряда серьезных наследственных аномалий обмена веществ.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены и докладывались на XIV Международном Биохимическом Конгрессе (Прага, 1988), на XXV Съезде Польского Биохимического общества (Торунь, 1989), на VI Всесоюзной конференции по биохимии мышц (Тбилиси, 1989), на III республиканской конференции "Медико-биологические аспекты повреждения и компенсации. Проблемы алкоголизма и здоровый образ жизни" (Гродно, 1989), на V Гродненской областной конференции молодых ученых и специалистов (Гродно, 1989).

Доклад, представленный на XXV Съезде Польского Биохимического общества по работе "Характеристика пируватдегидрогеназного комплекса из сердца человека", признан лучшим на кон-