

УДК 612.172 + 612.015.32

ФИЗИОЛОГИЯ

Е. Г. КРАУЗЕ, И. БЕЙЕРДОРФЕР, А. ВОЛЛЕНБЕРГЕР, Е. В. БОГДАНОВА,  
академик АН УССР Е. Б. БАВСКИЙ**ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ НЕКОТОРЫХ ПРОДУКТОВ  
ГЛИКОЛИЗА В МИОКАРДЕ ЛЯГУШКИ В РАЗНЫЕ ФАЗЫ  
СЕРДЕЧНОГО ЦИКЛА**

Коррелирующие с динамикой мышечного сокращения изменения содержания в скелетной мышце АТФ и фосфокреатина обстоятельно изучены в последние годы (<sup>1</sup>). Известно, что в скелетной мышце в течение отдельного сокращения происходит расщепление богатых энергией фосфорных соединений и соответствующее увеличение неорганического фосфата (<sup>2</sup>). Качественно сходные изменения показаны в течение цикла сокращения и для сердечной мышцы. По данным Бабского и Богдановой (<sup>3</sup>), содержание креатинфосфата в сердечной мышце лягушки наиболее высоко в конце диастолы и быстро снижается в фазу сокращения (систола). В отличие от хорошо изученных процессов расщепления богатых энергией фосфорных соединений, фазные, связанные с сердечным циклом, изменения процессов восстановления этих соединений еще недостаточно изучены (<sup>4</sup>). Потеря энергии, происходящая в течение каждого сердечного сокращения, должна восстанавливаться благодаря соответствующему использованию субстратов ресинтеза АТФ. Углеводы — глюкоза и гликоген — принадлежат к субстратам, преимущественно используемым сердечной мышцей, в особенности миокардом лягушки (<sup>5</sup>). Гликолитический распад углеводов представлен в миокарде комплексом регулируемых ферментатических процессов (<sup>6</sup>), эффективность которых может изменяться под влиянием различных продуктов метаболизма.

Определение содержания веществ, участвующих в различных звеньях обмена, позволяет составить представление о регуляции процессов расщепления (<sup>6</sup>, <sup>7</sup>). В связи с этим мы исследовали содержание в сердечной мышце некоторых промежуточных продуктов углеводного обмена в различные фазы сердечного цикла. Одновременно изучали изменения адениловой системы, фосфокреатина и ортофосфата, для того чтобы получить сведения о взаимоотношениях между энергообразующими и энергопотребляющими процессами.

**Методика.** Объектом экспериментов были осенние лягушки *Rana temporaria*, содержащиеся при 10°. Частота сокращений сердца у животных в среднем была около 20 в минуту. После декапитации и разрушения спинного мозга у животных регистрировали электрограмму. После вскрытия грудной клетки сердце замораживали *in situ* почти мгновенно в установленную по электрограмме фазу при помощи методики, разработанной Медеяниновским и др. (<sup>8</sup>). Для оценки состояния сократительного процесса, как и в предыдущих исследованиях (<sup>3</sup>), проводили синхронную регистрацию электро- и механограммы. Замораживание осуществляли в следующие фазы сердечного цикла:

1) в раннюю стадию систолы, сразу по окончании фазы быстрой деполаризации желудочка (нисходящая часть R-зубца электрограммы);

2) в конце электрической систолы, в фазу реполяризации (на высоте T-зубца электрограммы);

3) в начале диастолы (конец первой трети интервала T — R);

4) в конце диастолы (непосредственно перед R-зубцом следующего цикла).



15—20 желудочков сердец лягушек замораживали жидким азотом в одну и ту же фазу сердечного цикла и растирали в ступке с жидким азотом. Полученный порошок гомогенизировали с пятью объемами 0,5N HClO<sub>4</sub>. После центрифугирования экстракт ткани нейтрализовали КОН и тут же подвергали анализу. Энзиматическое определение продуктов углеводного обмена проводили по методу Хохорста и др. (15). АТФ, АДФ и АМФ определяли энзиматически с помощью набора реактивов «Boehringer». Анализ ортофосфата и фосфокреатина проводили по методу Валера и Волленбергера (16). Сухой вес определяли путем высушивания ткани при 105°; он достигал 14,8 мг на 100 мг сырого веса ткани.

Статистическая обработка результатов проводилась по *t*-тесту методом Стьюдента.

Результаты исследований и их. Полученные данные представлены в табл. 1. Обнаружено, что в ходе цикла сердечного сокращения лягушки происходят значительные изменения в содержании изучавшихся промежуточных продуктов гликолиза.

В начале систолы происходит быстрое увеличение содержания глюкозо-6-фосфата по сравнению с имевшимся в диастолу. В отличие от этого содержание других метаболитов, особенно триозофосфатов (суммы глицероальдегид-3-фосфата и дигидроксиацетонфосфата) и пирувата, значительно снижается.

На высоте механической систолы, в фазе II сердечного цикла, когда содержание креатинфосфата снижается до минимальных значений (см. табл. 1, а также данные работы (3)), отмечаются небольшие изменения в содержании метаболитов, за исключением 3-фосфоглицерата, содержание которого возрастает.

В следующую за этим фазу, в начале диастолы (фаза III сердечного цикла), достоверно увеличивается содержание фруктозо-6-фосфата и триозофосфата и снижается содержание фруктозо-1,6-дифосфата и трифосфоглицерата и начинает возрастать содержание пирувата.

В конце диастолы (фаза IV) статистически достоверно уменьшается

Таблица 1

Содержание в сердце лягушки некоторых продуктов гликолиза, аденин-нуклеотидов, фосфокреатина и ортофосфата в разные фазы сердечного цикла

| Фаза сердечного цикла | нмол. на 1 г сух. веса ткани |                      |                       |                       |                          | нмол. на 1 г сух. веса ткани |             |             |                          |                       | мкмол. на 1 г сух. веса ткани |            |  |  |
|-----------------------|------------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|------------------------------|-------------|-------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------------|------------|--|--|
|                       | Глюкозо-6-фосфат             | Фруктозо-6-фосфат    | Фруктозо-1,6-фосфат   | Триозофосфат          | Трифосфоглицерат         | Пируват                      | АТФ         | АДФ         | АМФ                      | Сумма аденин-фосфатов | Фосфокреатин                  | Ортофосфат |  |  |
| I                     | 840 <sup>a</sup> ± 40        | 26 <sup>a</sup> ± 3  | 309 ± 77              | 82 <sup>a</sup> ± 46  | 198 <sup>a</sup> ± 43    | 261 <sup>a</sup> ± 60        | 12,9 ± 0,9  | 4,01 ± 0,25 | 1,55 <sup>a</sup> ± 0,08 | 18,8 ± 2,1            | 14,1 ± 1,8                    | 24,9 ± 5,2 |  |  |
| II                    | 795 ± 88                     | 32 ± 11              | 362 <sup>a</sup> ± 32 | 146 ± 51              | 346 <sup>a, b</sup> ± 25 | 241 <sup>b</sup> ± 62        | 13,7 ± 1,38 | 3,03 ± 0,43 | 2,34 ± 0,27              | 21,3 ± 1,2            | 11,5 ± 0,3                    | 19,6 ± 1,8 |  |  |
| III                   | 864 ± 95                     | 98 <sup>a</sup> ± 33 | 251 <sup>a</sup> ± 26 | 201 <sup>a</sup> ± 46 | 239 <sup>b</sup> ± 32    | 338 ± 98                     | 14,0 ± 0,96 | 4,32 ± 0,86 | 2,87 <sup>a</sup> ± 0,35 | 20,8 ± 1,6            | 12,5 ± 2,4                    | 20,1 ± 2,6 |  |  |
| IV                    | 590 <sup>a</sup> ± 112       | 97 ± 37              | 351 ± 70              | 200 ± 40              | 306 ± 55                 | 484 <sup>a, b</sup> ± 67     | 15,2 ± 0,8  | 4,46 ± 0,56 | 1,73 ± 0,8               | 20,5 ± 1,1            | 18,5 ± 0,3                    | 18,0 ± 1,8 |  |  |

Примечания. 1. Обозначение фаз сердечного цикла см. в тексте. 2. В каждую фазу проведено 2—6 анализов. 3. а, b — различие между средними значениями, обозначенными одинаковыми буквами, достоверно ( $p < 0,05$ ).

содержание глюкозо-6-фосфата, максимально велико содержание пирувата, статистически недостоверно увеличивается содержание фруктозо-1,6-дифосфата. Параллельно с этими изменениями в IV стадию сердечного сокращения происходит ресинтез фосфокреатина, а содержание ортофосфата достигает минимальных за цикл значений.

Как следует из табл. 1, в течение цикла сердечного сокращения происходит кратковременное накопление АМФ в фазу III и снижение АТФ в фазу I. В другие же стадии цикла изменения содержания отдельных нуклеотидов и их суммы статистически недостоверны.

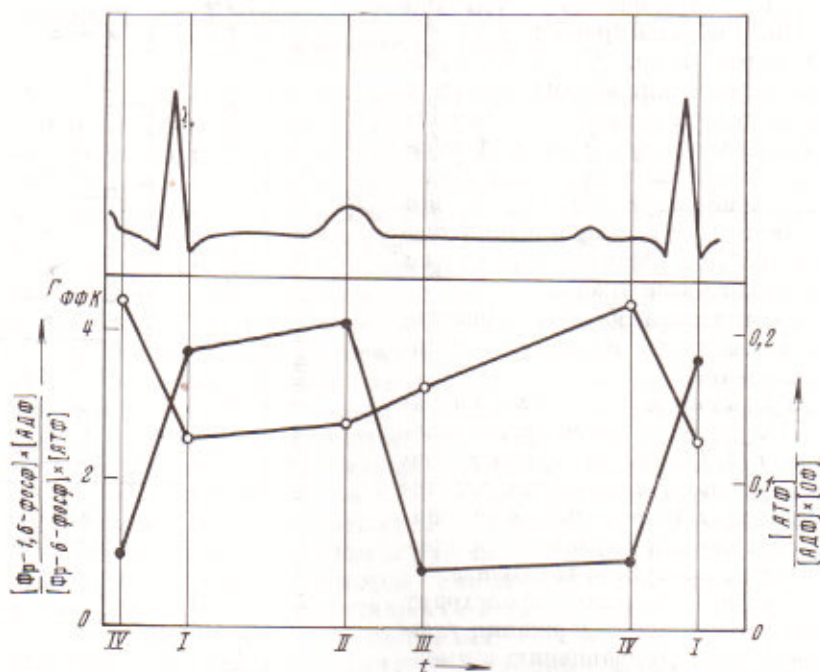


Рис. 1. Отношение действующих масс ( $\Gamma$ ) фосфофруктокиназной реакции к фосфатному потенциалу (отношение  $\frac{[ATP]}{[ADP] \times [O\Phi]}$  в сердце лягушки в течение одиночного сердечного цикла. Отношение было рассчитано по данным табл. 1. Цифры внизу обозначают фазы сердечного цикла, в которые производились исследования. Эти фазы синхронизованы с электрограммой

Полученные данные о содержании продуктов метаболизма в сердечной мышце, работавшей в аэробных условиях, позволяют вычислить отношение действующих масс ( $\Gamma$ ) <sup>(9)</sup> в ряде промежуточных реакций гликолиза. Это отношение действующих масс, когда сердце работает в условиях аэробноза, обычно находится в соответствии с термодинамическими равновесными константами ( $K_{eq}$ ) <sup>(10-12)</sup>. Для фосфофруктокиназы (ФФК) — одного из важнейших ферментов, участвующих в гликолизе, эти соотношения не соблюдены, и величина  $\Gamma$  ФФК-реакции находится на много порядков выше чем  $K_{eq}$ . На рис. 1 представлены значения  $\Gamma$  ФФК для анализируемых четырех фаз сердечной деятельности. Фазные изменения  $\Gamma$  ФФК позволяют судить о том, что активность этого фермента ритмически изменяется. Так, в то время как величина  $\Gamma$  во время диастолы миокарда составляет всего 0,8, во время систолы она увеличивается более чем в 5 раз. Этот сдвиг может указывать на активирование фосфофруктокиназной реакции, так как  $K_{eq}$  составляет при этом  $1,2 \times 10^5$ . Повышение активности ФФК описано <sup>(13)</sup> в сердце лягушки через 60 сек. после действия цианида



при температуре 20°. Так как во время сердечной деятельности количество ортофосфата изменяется больше, чем это нужно для его аллостерического действия на активность ФФК, можно предполагать, что именно это вещество оказывает влияние на активность данного фермента (см. также (6)).

Наличие четкой корреляции между изменениями  $\Gamma$  ФФК и вычисленным фосфатным потенциалом  $\left( \text{отношением } \frac{\text{АТФ}}{[\text{АДФ}] \cdot [\text{ОФ}]} \right)$  указывает на то,

что расщепление углеводов непосредственно контролируется энергетическим состоянием клеток (рис. 1). Начинаясь с снижения величины ФФК в течение диастолы обусловлено скорее торможением активности этого фермента, чем ускоренным потреблением фруктозо-1,6-дифосфата, так как одновременно имеет место накопление этого субстрата.

Значительное увеличение содержания пирувата к концу диастолы можно рассматривать как указание на снижение скорости реакций в цикле Кребса, точнее — в дыхательной цепи.

Приведенные результаты указывают на то, что 1) периодически повторяющиеся фазы повышенного потребления энергии в течение одиночного цикла сердечного сокращения протекают параллельно с ритмическим активированием углеводного обмена; 2) координируют оба процесса продукты распада АТФ, в первую очередь ортофосфат. Полученные данные показывают, что в течение сердечного цикла происходят с большой скоростью изменения состояния обмена, связанные с функцией сердечной мышцы, что должно учитываться при исследовании влияния различных условий на метаболизм сердца.

Институт кровообращения  
Германской Академии наук  
Берлин

Поступило  
19 III 1971

Институт нормальной и  
патологической физиологии  
Академии медицинских наук СССР  
Москва

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> W. F. H. M. Mommaerts, *Phys. Rev.*, **49**, 427 (1969). <sup>2</sup> A. A. Infante, D. Klaupik, R. E. Davis, *Biochim. et biophys. acta*, **94**, 505 (1965). <sup>3</sup> Е. Б. Бабский, Е. В. Богданова, ДАН, **171**, 750 (1966). <sup>4</sup> J. Ramirez, *J. Physiol.*, **147**, 14 (1959). <sup>5</sup> A. J. Clark, M. G. Eggleston et al., In: *The Metabolism of the Frog's Heart*, London, 1938. <sup>6</sup> A. Wollenberger, E. G. Krause, *Am. J. Cardiol.*, **22**, 349 (1968). <sup>7</sup> J. R. Williamson, *J. Biol. Chem.*, **241**, 5026 (1966). <sup>8</sup> А. Н. Медеяновский, В. А. Фролов и др., Сборн. Фазовый метод исследования и управления функциями организма, 1963, стр. 71. <sup>9</sup> T. Bücher, W. Rüschmann, *Angew. Chem.*, **75**, 881 (1963). <sup>10</sup> B. Chance, J. Higgins et al., *Nature*, **182**, 1190 (1958). <sup>11</sup> J. R. Williamson, *J. Biol. Chem.*, **240**, 2308 (1965). <sup>12</sup> А. Вольенбергер, Е. Г. Краузе, В кн.: Корреляция кровоснабжения с метаболизмом и функцией, Тбилиси, 1969, стр. 271. <sup>13</sup> P. Arese, A. Bosia, L. Rosini, *Ital. J. Biochem.*, **17**, 264 (1968). <sup>14</sup> T. E. Mansour, *J. Biol. Chem.*, **238**, 2285 (1963). <sup>15</sup> H. J. Hohorst, F. H. Kreutz, T. Bücher, *Biochem. Zs.*, **332**, 18 (1959). <sup>16</sup> B. E. Wahler, A. Wollenberger, *Biochem. Zs.*, **329**, 508 (1958).