

АТР-азна АКТИВНІСТЬ АКТОМІОЗИНОВОГО КОМПЛЕКСУ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ КРОЛЯ ЗА ДІЇ УЛЬТРАЗВУКУ

К. О. МЕДИНСЬКА, Н. Є. НУРИЩЕНКО, Л. І. ПЕЛЮХ, О. В. ШЕЛЮК

Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
ННЦ «Інститут біології», Україна;
e-mail: medinkat@ukr.net

У роботі досліджено вплив неперервного та імпульсного ультразвуку інтенсивністю 0,05; 0,2; 0,4; 0,7 та 1,0 Вт/см² на АТР-азну активність актоміозину скелетних м'язів кроля. Показано, що найбільші зміни Mg²⁺, Ca²⁺-АТР-азної активності спостерігались за дії неперервного ультразвуку інтенсивністю 0,2 та 0,4 Вт/см². K⁺-АТР-азна активність інгібувалась неперервним ультразвуком всіх досліджених величин інтенсивності. Імпульсний ультразвук 2 та 10 мс не змінював показники Mg²⁺, Ca²⁺-АТР-азної активності, тоді як K⁺-АТР-азна активність достовірно змінювалась лише за дії імпульсного ультразвуку інтенсивності 0,7 та 1,0 Вт/см², що ймовірно можна пояснити тепловим ефектом. Під час дослідження реконструйованого актоміозину з озвученим тропоніновим комплексом встановлено, що тропоніновий комплекс є найчутливішим до дії ультразвуку.

Ключові слова: актоміозинний комплекс, АТР-азна активність, ультразвук, скелетні м'язи.

Основною функціональною характеристикою актоміозину (АМ) є АТР-азна активність. Оскільки процес м'язового скорочення пов'язаний з утворенням актоміозинового комплексу та з наступними його конформаційними змінами за рахунок енергії, яка звільнюється внаслідок ензиматичного розщеплення АТР міозином, та АТР-азна активність актоміозину є такою його характеристикою, за якою можна судити про скорочувальну активність м'язів [1–4]. Mg²⁺, Ca²⁺-АТР-азна активність виявляється за наявності в середовищі іонів Mg²⁺ та Ca²⁺, які є необхідними для м'язового скорочення. Для актоміозину характерна Mg²⁺-АТР-азна активність і, власне, Mg²⁺-АТР є субстратом актоміозинової АТР-ази. У присутності Ca²⁺ така АТР-азна активність збільшується [5–7]. За відсутності двовалентних катіонів, що досягається додаванням у розчин ЕДТА, міозинова АТР-аза активується одновалентними катіонами K⁺, NH₄⁺, Rb⁺. Така активність міозину одержала назву ЕДТА-АТР-азної або K⁺-АТР-азної активності [1, 8]. Одновалентні катіони зменшують здатність міозину зв'язувати АТР і тому скорочення активується меншою мірою. K⁺-АТР-азна активність, як вважають деякі автори [8, 9], є релаксуючою АТР-азною активністю у відсутності двовалентних катіонів. Швидкість K⁺-АТР-азної реакції лімітується на стадії зв'язування АТР (значно більш слабого, ніж у разі дво-

валентних катіонів) [1]. Відомо, що ультразвук (УЗ) впливає на низку біохімічних реакцій та біофізичних процесів в організмі, у тому числі у скелетних м'язах [10–14]. Фізико-хімічний вплив УЗ пов'язаний із просторовою перебуваючою внутрішньоклітинних молекулярних комплексів. Підвищується активність низки ензимів, інтенсивність тканинних окисно-відновних процесів, збільшується мітотична активність клітин, у тканинах підвищується вміст деяких біологічно активних речовин: гепарину, гістаміну, серотоніну та ін. Також вивчено вплив УЗ на водні розчини амінокислот, протеїнів та нуклеїнових кислот [15]. Проте дані щодо впливу УЗ на АТР-азну активність протеїнів скоротливого апарату практично відсутні.

Саме тому метою роботи було дослідження впливу неперервного (УЗН) та імпульсного 2 та 10 мс (УЗІ) ультразвуку різної інтенсивності на Mg²⁺, Ca²⁺-АТР-азну та K⁺-АТР-азну активність актоміозину скелетних м'язів кроля.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на актоміозині, який виділяли зі скелетних м'язів кроля породи радянська шиншила (Soviet Chinchilla). Забій тварин (*n* = 10) здійснювали, попередньо наркотизуючи їх нембуталом. Виділення актоміозину проводили за методикою Перрі, описаною в роботі Тартаковського [16] та додатково очищали центрифугуванням при 30 000 g

протягом однієї години. Міозин зі скелетних м'язів кроля виділяли за методикою Перрі [17]. Виділення актину проводили за методикою Хаксли [18], тропонінового комплексу – за методикою Гусєва і Добровольського [19]. Чистоту протеїнів контролювали електрофоретично у блоці градієнтного поліакриламідного гелю у присутності DSNa [20]. Для контролю протеїнових препаратів проводили електрофорез нативного та реконструйованого актоміозину, на електрофореграмах яких було виявлено міозин, актин, тропоміозин, тропонін-Т, тропонін-І, тропонін-С, легкі ланцюги міозину, легкий мероміозин, α -актинін. Після вилучення тропонін-тропоміозинового комплексу до АМ-комплексу входили актин, міозин та легкі ланцюги міозину. Визначення концентрації скоротливих протеїнів проводили біуретовою реакцією, яка була оптимальною в діапазоні концентрацій від 0,5 до 10 мг/мл [21].

Дослідження проводили на нативному та реконструйованому актоміозинівому комплексі. Реконструкцію здійснювали шляхом простого змішування попередньо виділених зі скелетного м'яза кроля чистого актину, міозину, тропоміозину та озвученого тропонінового комплексу в еквімолярних концентраціях, внаслідок чого відбувалось самозбирання комплексу. Окрему серію дослідів було проведено на протеїнах із вилученням тропонін-тропоміозинового комплексу. Для вилучення регуляторних протеїнів актоміозинівий комплекс багаторазово відмивали розчином KCl із низькою іонною силою (0,04 М). Протеїновий комплекс розводили буфером у 10 разів, потім центрифугували при 6 000 g, 15 хв, після чого осад переводили в 0,6 М KCl (переосадження 4–5 разів). При центрифугуванні тропоміозин і тропоніновий комплекс залишались у супернатанті. Протеїни Ca^{2+} -чутливого комплексу відмивали і АТР-азна активність комплексу вже не регулювалася іонами Ca^{2+} .

Озвучення протеїнів проводили з використанням УЗ-приладу УЗТ-3.04 С (Україна) впродовж 5 хв. Частота УЗ-сигналу становила 0,88 МГц. Використовували неперервний та імпульсний 2 та 10 мс УЗ з інтенсивністю 0,05; 0,2; 0,4; 0,7 та 1,0 Вт/см².

АТР-азну активність актоміозину та міозину визначали за кількістю неорганічного фосфату (P_i), що утворювався внаслідок гідролізу АТР, за методом Фіске-Суббароу [21, 22]. АТР-азну реакцію проводили при 37 °С в інкубаційному середовищі (загальний об'єм

проби – 1,8 мл) із такими концентраціями: для актоміозинової $\text{Mg}^{2+}, \text{Ca}^{2+}$ -АТР-ази: 2,5 мМ MgCl_2 , 0,1 мМ CaCl_2 , 50 мМ KCl, імідазольний буфер 20 мМ (pH 7,5), 0,28 мг/мл актоміозину; для актоміозинової K^+ -АТР-ази: 1 мМ ЕГТА, 50 мМ KCl, імідазольний буфер 20 мМ (pH 7,5), 0,28 мг/мл актоміозину; для міозинової $\text{Mg}^{2+}, \text{Ca}^{2+}$ -АТР-ази: 2,5 мМ MgCl_2 , 0,1 мМ CaCl_2 , 50 мМ KCl, імідазольний буфер 20 мМ (pH 7,5), 0,14 мг/мл міозину; для міозинової K^+ -АТР-ази: 1 мМ ЕДТА, 50 мМ KCl, імідазольний буфер 20 мМ (pH 7,5), 0,14 мг/мл міозину. АТР-азну реакцію ініціювали внесенням 0,2 мл 1 мМ АТР до середовища інкубації та виражали у нмоль P_i /хв на 1 мг протеїну. Реакцію зупиняли через 5 хв додаванням до проби 0,45 мл 20%-ї трихлороцтової кислоти (кінцевий вміст у пробі складав 4%). Після чого проби центрифугували 15 хв при 2 500 об/хв, відбирали з кожної пробірки 1,5 мл супернатанту для визначення в ньому кількості відщепленого P_i за характерним забарвленням. Для цього до кожної проби додавали 0,5 мл 0,2%-ї аскорбінової кислоти та 0,25 мл 2%-го молібденового реактиву. Через 20 хв вимірювали абсорбцію середовища на довжині хвилі 720 нм, що відповідає максимуму поглинання молібденової сині. Кількість утвореного P_i у пробі розраховували за калібрувальною кривою, яку будували для певних концентрацій. АТР-азну активність актоміозину визначали за формулою:

$$A = [(P-K) \cdot V_{\text{заг}}] \cdot N / [t_{\text{інкуб.}} \cdot V_{\text{к}} \cdot V_{\text{пр}} \cdot C_{\text{пр}}],$$

де P – величина абсорбції проби, K – величина абсорбції контролю, $V_{\text{заг}}$ – загальний об'єм, в якому здійснюють кольорову реакцію, $t_{\text{інкуб.}}$ – час інкубування протеїну з АТР, $V_{\text{к}}$ – об'єм протеїну, який додають у пробу, $V_{\text{пр}}$ – об'єм відібраного супернатанту після центрифугування проб, $C_{\text{пр}}$ – концентрація протеїну, що додається, N – калібрувальний коефіцієнт.

Типове значення для $\text{Mg}^{2+}, \text{Ca}^{2+}$ -АТР-азної активності актоміозину дорівнювало $139,00 \pm 12,56$ нмоль P_i /хв на мг протеїну, для K^+ -АТР-азної активності актоміозину дорівнювало $25,00 \pm 3,42$ нмоль P_i /хв на мг протеїну. Типове значення для $\text{Mg}^{2+}, \text{Ca}^{2+}$ -АТР-азної активності міозину дорівнювало $150,00 \pm 8,49$ нмоль P_i /хв на мг протеїну, для K^+ -АТР-азної активності міозину дорівнювало $72,75 \pm 4,07$ нмоль P_i /хв на мг протеїну. Типове значення для $\text{Mg}^{2+}, \text{Ca}^{2+}$ -АТР-азної активності нерегульованого актоміозину дорівнювало $96,12 \pm 4,56$ нмоль P_i /хв на мг протеїну, для K^+ -АТР-азної активності нере-

гульованого актоміозину дорівнювало $96,58 \pm 3,74$ нмоль Р/хв на мг протеїну. Типове значення для Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-азної активності реконструйованого актоміозину дорівнювало $122,09 \pm 6,42$ нмоль Р/хв на мг протеїну, для K^+ -АТР-азної активності реконструйованого актоміозину дорівнювало $92,50 \pm 5,38$ нмоль Р/хв на мг протеїну.

Статистичну обробку результатів експериментів здійснювали методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення «Origin 8.0». Результати досліджень представляли у вигляді середніх значень ($M \pm m$). Вірогідними вважали результати при $P < 0,05$.

Результати та обговорення

Результати проведених нами досліджень показали, що УЗ впливає як на Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-азну, так і на K^+ -АТР-азну активність, але змінюється вона неоднаково (рис. 1 та 2). Неперервний ультразвук з інтенсивністю $0,05$ Вт/см² (рис. 1) не впливає на величину Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-азної активності актоміозину скелетних м'язів порівняно з контролем ($P > 0,05$). За дії ультразвуку з інтенсивністю $0,2, 0,4$ та $0,7$ Вт/см² спостерігали зростання Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-азної активності відносно контролю на $59, 40$ та 27% відповідно. Найбільше зростання АТР-азної активності відбувалось за дії неперервного УЗ з інтенсивністю $0,2$ Вт/см².

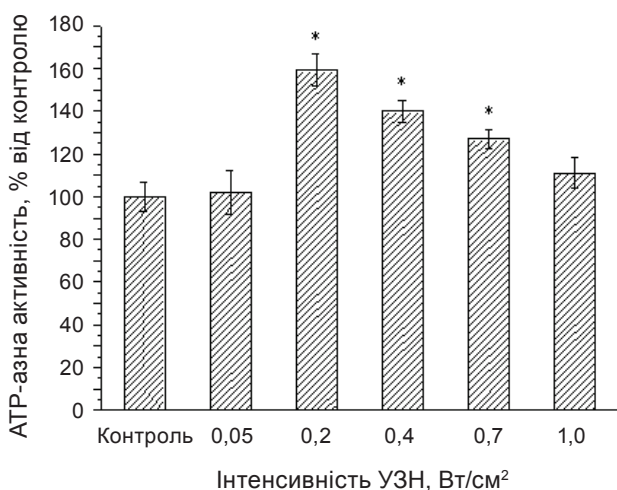


Рис. 1. Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-азна активність актоміозину скелетних м'язів кроля за дії неперервного ультразвуку різної інтенсивності, ($M \pm m$; $n = 10$); * вірогідна різниця відносно контролю при $P < 0,05$. За 100% приймали значення Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-азної активності незвученого актоміозину

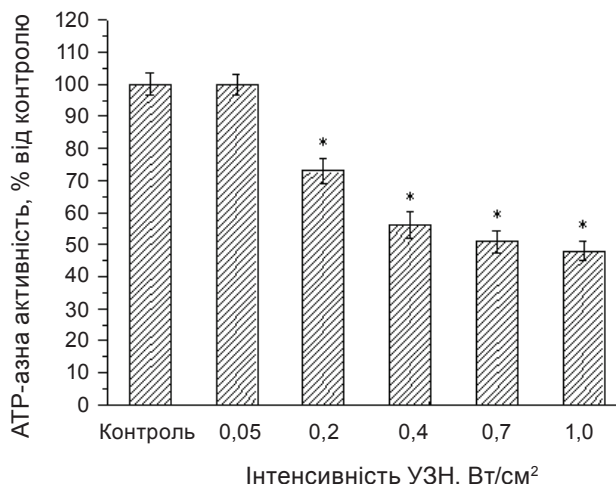


Рис. 2. K^+ -АТР-азна активність актоміозину скелетних м'язів кроля за дії неперервного ультразвуку різної інтенсивності, ($M \pm m$; $n = 10$); * вірогідна різниця відносно контролю ($P < 0,05$). За 100% приймали значення K^+ -АТР-азної активності незвученого актоміозину

Під впливом неперервного УЗ з інтенсивністю $1,0$ Вт/см² Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-азна активність також зростала, проте статистично невірогідно.

Внаслідок додавання ЕГТА в середовище інкубації для інгібування Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-ази (рис. 2) в усіх варіантах озвучення встановлено, що K^+ -АТР-азна активність актоміозину скелетних м'язів знижувалась відносно контролю на $27, 44, 49$ та 52% відповідно до збільшення інтенсивності ультразвуку $0,2; 0,4; 0,7$ та $1,0$ Вт/см². Ультразвук з інтенсивністю $0,05$ Вт/см², як і в попередньому досліді, не впливає на активність ензиму. Тоді як УЗ з інтенсивністю $0,2$ Вт/см² знижує K^+ -АТР-азну активність актоміозину, але ефект впливу є меншим, ніж за дії УЗ вищої інтенсивності.

Серед застосованих режимів імпульсного УЗ найбільший вплив на АТР-азну активність актоміозину спричиняє імпульсний УЗ 2 мс. Імпульсний УЗ менш виражено впливає на зміни АТР-азної активності актоміозину і цей вплив пов'язаний тільки з тепловим ультразвуковим ефектом, оскільки статистично значущих величин зміни набувають тільки за дії інтенсивності УЗ $0,7$ та $1,0$ Вт/см². При цьому імпульсний УЗ 2 мс з інтенсивністю $0,7$ та $1,0$ Вт/см² (рис. 3) вірогідно знижує K^+ -АТР-азну активність на 27 та 34% відповідно порівняно з контролем – незвученим актоміозином. Імпульсний УЗ 10 мс з інтенсивністю $1,0$ Вт/см² (рис. 4) знижує K^+ -АТР-азну активність на 27% відносно контролю. У той час як імпульсний

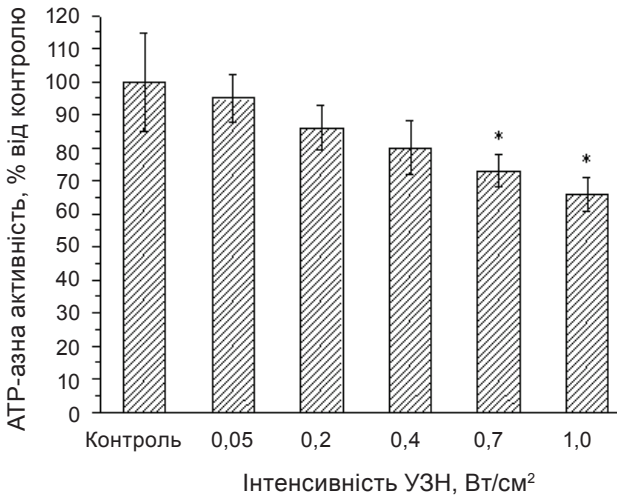


Рис. 3. K⁺-АТФ-азна активність актоміозину скелетних м'язів кроля за дії імпульсного ультразвуку 2 мс різної інтенсивності, ($M \pm m$; $n = 10$); * вірогідна різниця відносно контролю ($P < 0,05$). За 100% приймали значення K⁺-АТФ-азної активності незвученого актоміозину

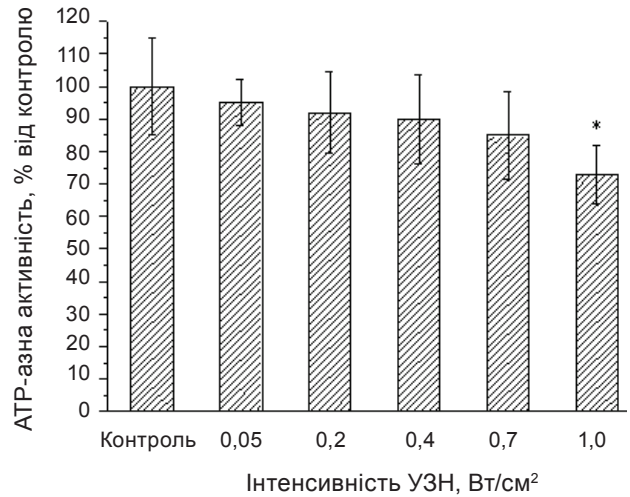
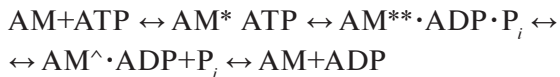


Рис. 4. K⁺-АТФ-азна активність актоміозину скелетних м'язів кроля за дії імпульсного ультразвуку 10 мс різної інтенсивності, ($M \pm m$; $n = 10$); * вірогідна різниця відносно контролю ($P < 0,05$). За 100% приймали значення K⁺-АТФ-азної активності незвученого актоміозину

УЗ 2 та 10 мс майже не впливає на показники Mg²⁺,Ca²⁺-АТФ-азної активності актоміозину (зміни були статистично невірогідними).

Відомо [23], що механізми дії Mg²⁺,Ca²⁺-АТФ-ази і K⁺-АТФ-ази відрізняються. Mg²⁺,Ca²⁺-АТФ-азна реакція перебігає за наступним механізмом:



В актоміозині відбувається цикл утворення містків між актином і міозином, сила яких залежить від продуктів Mg²⁺,Ca²⁺-АТФ-азної реакції, що знаходяться в активному центрі ензиму [23]. Під час гідролізу АТФ в активному центрі утворюються інтермедіальні комплекси AM^{*}·ADP·P_i та AM^{**}·ADP·P_i. Формування цих комплексів супроводжує конформаційні зміни молекули міозину, що веде до утворення зв'язків міозину з актином, але під кутом, що відрізняється від кута цих містків в актоміозині за відсутності АТФ. Утворення останніх значно пришвидшує процес ізомеризації AM^{*}·ADP·P_i і AM^{**}·ADP·P_i інтермедіатів і видалення продуктів АТФ-азної реакції з активного центру. Механізм K⁺-АТФ-азної реакції простіший:



У разі з K⁺-АТФ-азою комплекс актоміозину з продуктами реакції не утворюється і швидкість реакції лімітується

стадією зв'язування з АТФ (значно слабшого, ніж у разі двовалентних катіонів) та її гідролізу. Збільшення Mg²⁺,Ca²⁺-АТФ-азної активності і зменшення K⁺-АТФ-азної активності може бути пов'язане з переважанням AM^{*}·ADP·P_i і AM^{**}·ADP·P_i інтермедіатів.

Порівнюючи дані про вплив УЗ на АТФ-азну активність можна припустити наступний механізм впливу УЗ на актоміозиновий комплекс. Для неперервного УЗ збільшення Mg²⁺,Ca²⁺-АТФ-азної активності можна пояснити тим, що внаслідок формування між F-актином і міозином сильної форми зв'язування (стадії AM і AM^{*}·ADP) мономери актину переходять у типовий для цієї стадії «включений стан» актоміозину і головки міозину набувають впорядкованої орієнтації в м'язовому волокні. На протилежність цьому, зменшення АТФ-азної активності за дії імпульсного УЗ відбувається внаслідок формування слабкої форми зв'язування міозину з актином (стадія AM·ATP і AM·ADP·P_i), спостерігається дезорієнтація головок міозину і мономери актину переходять у «виключений стан» [24, 25].

Для з'ясування механізмів дії УЗ наступні наші дослідження були пов'язані з вивченням впливу УЗ на АТФ-азну активність нерегульованого актоміозину, окремого міозину та реконструйованого актоміозину. Встановлено, що внаслідок дії УЗ на нерегульований актоміозин (тобто під час відділення регуля-

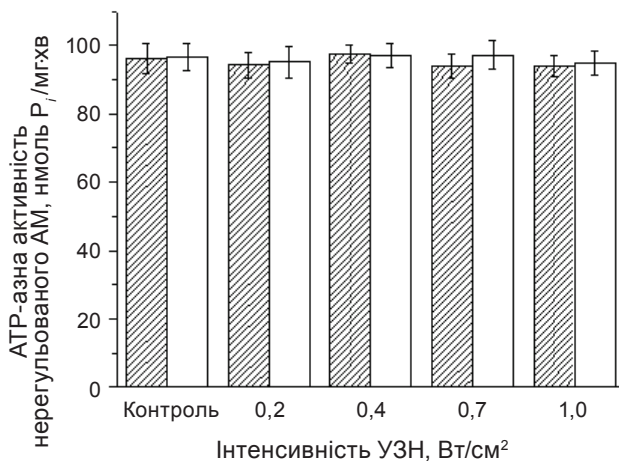




Рис. 5. АТР-азна активність нерегульованого актоміозину (нмоль P_i /мг·хв);  – Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-азна активність;  – K^+ -АТР-азна активність за дії неперервного ультразвуку (УЗН) різної інтенсивності, ($M \pm m$; $n = 10$). За 100% приймали значення АТР-азної активності незвученого нерегульованого актоміозину (АМ)

торних протеїнів від актинового філамента) АТР-азні активності практично не змінюються (рис. 5). Цей факт дозволяє зробити припущення про Ca^{2+} -залежний характер впливу УЗ на протеїни скоротливого апарату.

У разі дії УЗ на чистий міозин (табл. 1) ми одержали дані про зниження АТР-азної активності порівняно з контролем. Так, УЗ інтенсивністю 0,2 Вт/см² призводить до зниження Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-азної активності міозину на 34% відносно контролю, у разі застосування інтенсивності 0,4 Вт/см² – до 72%. УЗ інтенсивністю 0,7 та 1,0 Вт/см² також інгібує Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-азу на 21 та 15% відповідно. Зниження Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-азної активності міозину може бути зумовлено порушенням

структури його активного центру, оскільки за таких умов експерименту АТР-азний центр чистого міозину вільний від взаємодії з актином, і саме тому міозин виявляється чутливішим до дії УЗ. Озвучення за всіх режимів не змінює K^+ -АТР-азну активність міозину (табл. 2).

Необхідним вважалось проведення досліджень, які би дозволили встановити, чи впливає УЗ на тропоніновий комплекс та як змінюється Mg^{2+}, Ca^{2+} - та K^+ -АТР-азна активність реконструйованого актоміозину в умовах озвучення тропонінового комплексу. Було проведено реконструкцію актоміозину з попередньо виділених зі скелетного м'яза кроля чистого актину, міозину, тропоміозину та озвученого тропонінового комплексу. Результати проведених досліджень показали, що Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-аза за дії неперервного УЗ інтенсивністю 0,2 та 0,4 Вт/см² (табл. 1) зростає однаково – на 27 та 25% відповідно, де під час реконструкції використовували інтактний тропонін. Величину контролю було прийнято за 100%. За дії неперервного УЗ з інтенсивністю 0,7 та 1,0 Вт/см² Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-азна активність також зростає відносно контролю на 14 та 6% відповідно. Як видно з одержаних результатів (табл. 1), величина Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-азної активності реконструйованого актоміозину хоча і зростає порівняно з озвученим міозином, проте залишається дещо нижчою порівняно з показниками для озвученого нативного актоміозину. Зниження АТР-азної активності реконструйованого актоміозину відносно нативного під впливом УЗ може бути пов'язано з порушенням структури тропоніну.

K^+ -АТР-азна активність у разі озвучення як нативного, так і реконструйованого актоміозину, з використанням озвученого тропонінового комплексу, знижується за дії всіх досліджених величин інтенсивності ульт-

Таблиця 1. Порівняльний аналіз Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-азної активності за озвучення нативного актоміозину, міозину та реконструйованого актоміозину з озвученим тропоніновим комплексом, $n = 15$

Система, що вивчалась	Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТР-азна активність, % від контролю			
	Інтенсивність неперервного ультразвуку, Вт/см ²			
	0,2	0,4	0,7	1,0
Озвучений нативний актоміозин, %	159 ± 5,02*	140 ± 3,97*	127 ± 4,76*	111 ± 4,98*
Реконструйований актоміозин при озвученні тропонінового комплексу, %	127 ± 4,76*	125 ± 2,65*	114 ± 5,34*	106 ± 4,14*
Озвучений міозин, %	66 ± 2,57*	28 ± 1,87*	79 ± 2,56*	85 ± 3,12*

Тут і в табл. 2 * різниця відносно контролю вірогідна ($P < 0,05$)

Таблиця 2. Порівняльний аналіз K^+ -АТФ-азної активності за озвучення нативного актоміозину, міозину та реконструйованого актоміозину з озвученим тропоніновим комплексом, $n = 15$

Система, що вивчалась	K^+ -АТФ-азна активність, % від контролю			
	Інтенсивність неперервного ультразвуку, Вт/см ²			
	0,2	0,4	0,7	1,0
Озвучений нативний актоміозин, %	73 ± 1,15*	56 ± 1,48*	51 ± 2,11*	48 ± 1,72*
Реконструйований актоміозин при озвученні тропонінового комплексу, %	89 ± 1,54*	79 ± 1,89*	56 ± 1,57*	50 ± 1,14*
Озвучений міозин	не змінюється	не змінюється	не змінюється	не змінюється

тразвуку (рис. 2, табл. 2). Зміни K^+ -АТФ-азної активності нативного актоміозину за дії УЗ з інтенсивністю 0,2 та 0,4 Вт/см² вираженіші порівняно зі змінами для реконструйованого актоміозину, але при 0,7 та 1,0 Вт/см², вплив УЗ на ці системи є однаковим. УЗ з інтенсивністю 0,2 Вт/см² (табл. 2) незначно змінює K^+ -АТФ-азну активність реконструйованого актоміозину (11%). Застосування інтенсивності 0,4 Вт/см² призводить до зниження досліджуваного показника на 21% відносно контролю. За дії УЗ з інтенсивністю 0,7 та 1,0 Вт/см² реєстрували зниження АТФ-азної активності однаково в межах похибки – на 44 та 50% відповідно.

Одержані нами результати свідчать про здатність УЗ впливати на функціональну характеристику актоміозину, основним показником якої є Mg^{2+}, Ca^{2+} - та K^+ -АТФ-азна активність. АТФ-азна активність змінюється під впливом ультразвуку, що може вказувати на зміни біологічної активності актоміозинового комплексу, який відповідає за процес м'язового скорочення. Ультразвук не впливає на нерегульований актоміозин (без регуляторного тропонінового комплексу), що вказує на Ca^{2+} -залежний характер його впливу на протеїни скоротливого апарату. За змінами показників АТФ-азної активності нативного, нерегульованого, реконструйованого актоміозинів та чистого міозину найчутливішим до дії ультразвуку виявився тропоніновий комплекс у складі актоміозину. Нами були проведені дослідження *in vitro*, які, безперечно, не можна перенести на рівень організму, але одержані результати дозволяють зробити певний висновок про механізм впливу УЗ на скоротливі протеїни скелетних м'язів, що є важливим для встановлення механізму його дії за патології м'язів.

АТФ-азная АКТИВНОСТЬ АКТОМИОЗИНОВОГО КОМПЛЕКСА СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ КРОЛИКА ПОД ВЛИЯНИЕМ УЛЬТРАЗВУКА

Е. А. Медынская, Н. Е. Нурищенко, Л. И. Пелюх, О. В. Шелюк

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, ННЦ «Институт биологии», Украина; e-mail: medinkat@ukr.net

В работе исследовано влияние непрерывного и импульсного ультразвука интенсивностью 0,05; 0,2; 0,4; 0,7 и 1,0 Вт/см² на АТФ-азную активность актомиозина скелетных мышц кролика. Показано, что наибольшие изменения Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТФ-азной активности наблюдаются при действии непрерывного ультразвука интенсивностью 0,2 и 0,4 Вт/см². K^+ -АТФ-азная активность ингибируется непрерывным ультразвуком при всех исследуемых значениях интенсивности. Импульсный ультразвук 2 и 10 мс не изменяет показатели Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТФ-азной активности, тогда как K^+ -АТФ-азная активность достоверно изменяется только при действии импульсного ультразвука интенсивностью 0,7 и 1,0 Вт/см², что вероятно можно объяснить тепловым эффектом. При исследовании реконструированного актомиозина с озвученным тропониновым комплексом установлено, что тропониновый комплекс наиболее чувствительный к действию ультразвука.

Ключевые слова: актомиозиновый комплекс, АТФ-азная активність, ультразвук, скелетные мышцы.

ATPase ACTIVITY OF RABBIT SKELETAL MUSCLES ACTOMYOSIN COMPLEX UNDER ULTRASOUND EFFECT

K. O. Medynska, N. Ye. Nurishchenko, L. I. Pelyukh, O. V. Shelyuk

Taras Shevchenko Kyiv National University;
Educational and Scientific Centre
«Institute of Biology», Ukraine;
e-mail: medinkat@ukr.net

S u m m a r y

Influence of continuous and impulsive ultrasound 0.05; 0.2; 0.4; 0.7 and 1.0 W/cm² on ATPase activity of rabbit skeletal muscle actomyosin has been investigated in this work. It has been shown that most changes of Mg²⁺,Ca²⁺-ATPase activity are observed under 0.2 and 0.4 W/cm² continuous ultrasound. K⁺-ATPase activity is inhibited by continuous ultrasound of all intensities studied. Impulsive 2 and 10 ms ultrasound did not change the Mg²⁺,Ca²⁺-ATPase activity. While K⁺-activity is reliably changed only under impulsive 0.7 and 1.0 W/cm² ultrasound that can be explained by the thermal effect. It has been determined, when studying the reconstructed actomyosin with sound troponin complex, that troponin complex is the most ultrasound sensitive constituent of actomyosin.

Key words: actomyosin complex, ATPase activity, ultrasound, skeletal muscle.

1. Поглазов Б. Ф., Левицкий Д. И. / Миозин и биологическая подвижность. — М.: Наука, 1982. — 160 с.
2. Highsmith S., Eden D. // Biochemistry. — 1993. — **32**, N 10. — P. 2455–2458.
3. Mansson A. // Biophys. J. — 2010. — **98**, N 7. — P. 1237–1246.
4. Prochniewicz E., Spakowicz D., Thomas D. D. // Biochemistry. — 2008. — **47**, N 45. — P. 11811–11817.
5. Reisler E., Liu J., Cheung P. // Ibid. — 1983. — **22**. — P. 4954–4960.
6. Nakamura Y., Kobayashi M., Nakamura H. et al. // Eur. J. Biochem. — 1987. — **167**. — P. 1–6.

7. Burton K., White H., Sleep J. // J. Physiol. — 2004. — **563**, N 3. — P. 689–711.
8. Sobieszek A., Bremel R. // Eur. J. Biochem. — 1975. — **55**. — С. 49–60.
9. Cooke R., Franks K. // Biochemistry. — 1980. — **19**, N 10. — P. 2265–2269.
10. Johns L. D. // J. Athl. Train. — 2002. — **37**, N 3. — P. 293–299.
11. Campbell P., Prausnitz M. R. // Ultrasound Med. Biol. — 2007. — **33**, N 4. — 657 p.
12. Haar ter G. // Prog. Biophys. Mol. Biol. — 2007. — **93**, N 1–3. — P. 111–129.
13. Hsu S. H., Huang T. B. // Biomol. Eng. — 2004. — **21**, N 3–5. — P. 99–104.
14. Parvizi J., Parpura V., Greenleaf J. F., Bolander M. E. // J. Orthop. Res. — 2002. — **20**, N 1. — P. 51–57.
15. Renno A. C., Toma R. L., Feitosa S. M. et al. // Photomed Laser Surg. — 2011. — **29**, N 1. — P. 5–10.
16. Тартаковский А. Д. / Сб.: Биофизические и биохимические методы исследования мышечных белков / Под. ред. Г. Р. Иванниченко. — Л.: Наука, 1978. — С. 55–76.
17. Perry W. T., Perry S. V. // Biochem. J. — 1970. — **119**, N 1. — P. 31–41.
18. Huxley H. E. // J. Mol. Biol. — 1963. — **7**. — 284 p.
19. Гусев Н. Б., Добровольский А. Б. / Сб. Биофизические и биохимические методы исследования мышечных белков. — Л.: Наука, 1978. — С. 151–164.
20. Sobieszek A. // Electrophoresis. — 1994. — **15**, N 8–9. — P. 1014–1020.
21. Северин С. Е., Соловьева Г. А. Практикум по биохимии — Л.: Изд-во ЛГУ, 1989. — 509 с.
22. Орехович В. Н. Современные методы в биохимии. — М: Медицина, 1977. — 268 с.
23. Muhlrud A., Peyser Y. M., Nili M. et al. // Biophys. J. — 2003. — **84**. — P. 1047–1056.
24. Levitsky D. I. // Biochem. Mosc. — 2004. — **69**, N 11. — P. 1177–1189.
25. Пронина О. Е., Копеланд О., Мартсон С., Боровиков Ю. С. // Цитология. Регуляция гидролиза АТФ кальдесмоном. — 2006. — **48**, № 1. — С. 9–18.

Отримано 23.01.2012