

Вплив іонів цинку на АТФазну активність міозину і реакцію суперпреципітації актоміозину серцевого м'яза

К. І. Богуцька, Ю. І. Прилуцький

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Вул. Володимирська, 64, Київ, Україна, 01601

biophys@univ.kiev.ua

Мета. Дослідити вплив іонів цинку на АТФ-гідролазну реакцію, що каталізується міозином, та реакцію суперпреципітації (СПП) актоміозину серцевого м'яза. **Методи.** Препаративна білкова хімія, іонообмінна хроматографія та оптична спектроскопія. **Результати.** Показано, що у діапазоні концентрацій 0,1–5 мМ іони цинку пригнічують Ca^{2+} -АТФазну активність міозину та Mg^{2+} -залежну реакцію СПП актоміозину серцевого м'яза. Порівняно оригінальні результати з відомими даними щодо впливу інших двовалентних іонів – стронцію та кадмію – на вищезгадані процеси. **Висновки.** Іони цинку, ймовірно, замінюючи іони кальцію або магнію за реакції СПП та АТФ-гідролазного процесу, здатні модулювати актин-міозинову взаємодію, змінюючи функціональні характеристики актоміозинових макромолекул м'яза. Отримані результати розширюють існуючі уявлення щодо механізмів впливу фізико-хімічних чинників середовища, зокрема, іонів металів на ферментативну активність АТФ-гідролаз, а саме – міозинової АТФази міокарда.

Ключові слова: міозин, актоміозин, АТФаза, іони цинку, серцевий м'яз.

Вступ. Проблема регуляції функціональної активності м'язів і каталітичних механізмів забезпечення цього процесу завжди була і є актуальною для біофізики, біохімії, фізіології та фармакології м'язів. Важливим у цьому контексті є вивчення впливу фізико-хімічних чинників середовища на активність різних АТФаз м'язової тканини. На сьогодні існує достатньо інформації щодо ролі АТФазної активності міозину у реалізації скоротливої функції міофібрил [1], але досі відкритими залишаються такі питання, як роль катіонів у функціонуванні АТФази міозину, їхній вплив на конформацію ферменту та структуру субстрату тощо. Для пошуку відповідей на них необхідні подальші дослідження на очищених м'язових скоротливих білках.

Незважаючи на значну кількість даних з біологічної дії іонів металів (Me^{2+}) на організм, молекулярні механізми такої дії на субклітинному рівні вивчено мало. Отримання нових експериментальних даних сприятиме розробці методів підвищення стійкості організму до дії шкідливих факторів і терапії інтоксикацій, викликаних різноманітними сполуками металів. При виборі катіона потрібно враховувати його функціональну значущість, здатність накопичуватися у м'язовій тканині і, нарешті, проявляти себе у тих чи інших біохімічних процесах [2–5].

Відомо, що в біологічних системах цинк існує як у зв'язаній формі, так і хімічно реактивний – Zn^{2+} . Це складовий структурний компонент багатьох цинк-вмісних білків включно з молекулами клітинних сигнальних шляхів [4, 5]. У скелетних м'язах

шурів визначено розподіл цинку з використанням цинк-адекватної та цинк-дефіцитної дієт [6]. Дефіцит цинку може бути фактором впливу на морфологію серця та серцевих білків на моделі шурів [7]. Визначальною є роль цинку як біомаркера деяких процесів, у тому числі старіння [8, 9]. Також проводяться дослідження щодо з'ясування фізіологічної ролі цинку як антиоксиданта, з визначення цитотоксичності наночастинок цинку, можливості створення біосенсора на основі кардіоміоцитів для детекції важких металів [10–12].

Взагалі, останніми роками вивчають ефекти впливу іонів цинку на організм – прижиттєвий та летальний розподіл у тканинах, дію на окремі структури (мембрани, білки та ін.) [3, 13–15], а також з'ясовують роль цинк-вмісних металопротеїнів як перспективної фармакологічної мішені [16]. Проте не досить вивченим залишається механізм контролю внутрішньоклітинного розподілу Zn^{2+} та його зміни протягом циклу функціонування серця [17, 18]. Подібні дослідження зміни гомеостазу Zn^{2+} проводять з використанням специфічного флуоресцентного барвника FluoZin-3 [19], а також маспектрометричної техніки, яка дозволяє «закартувати» метал у біологічній тканині.

Так, у серці мишей цинк розподіляється негомогенно з середньою концентрацією 26 мкг/г тканини [19]. Результати свідчать, що цинк акумулюється головним чином у м'язових волокнах середньої оболонки міокарда. Якщо в гладеньких м'язах він рівномірно розподілений у саркоплазматичному ретикулумі, то у волокнах міокарда він концентрується переважно в анізотропних дисках міофібрил, тобто у тих їхніх ділянках, що складаються з міозину.

Встановлено токсичність вільного цинку за умов *in vitro* [20]. При аналізі вмісту мікроелементів у різних ділянках лівого шлуночка хворих на ішемічну хворобу серця методом рентгенофлуоресцентного аналізу з використанням синхротронного випромінювання виявлено дисбаланс мікроелементів, зокрема, різко підвищений вміст Zn [3]. У рамках вивчення кардіопротекторних властивостей цинк-вмісних сполук зроблено припущення про те, що іони цинку можуть бути потенційними знижувачами ішемічних та постішемічних пошкоджень

тканин внаслідок механізму, пов'язаного з антагонізмом по реактивності міді [21].

Отже, проведення досліджень у цьому напрямку загалом має практичне значення через можливу регуляцію функціональної активності м'язів за участі іонів цинку за умов норми і патології [3, 22, 23].

Метою цієї роботи було вивчити вплив іонів цинку на біохімічні процеси, які моделюють молекулярний механізм скорочення м'язів, – АТФ-гідролазну реакцію, що каталізується міозином, та реакцію суперпреципітації (СПП) актоміозинового комплексу.

Матеріали і методи. Міозин серцевого м'язика бика виділяли за методом Маргосян з деякими модифікаціями [24]. Актomioзин екстрагували впродовж 1 год розчином, що містив 0,2 М КСl, 0,15 М трис-НСl, рН 8,0, 1 мМ ЕДТА, 5 мМ MgCl₂, 0,2 мМ PMSF, 1 мМ NaN₃, 3,5 мМ АТФ. Актomioзин осаджували із супернатанту додаванням 10 об'ємів холодної дистильованої води, попередньо довівши 0,1 н оцтовою кислотою величину його рН до 6,2. Білок збирали центрифугуванням при 3000 g протягом 15 хв. Після розчинення в 40 мМ Na₄P₂O₇, рН 7,5, 1 мМ ДТТ, 1 мМ NaN₃ та діалізу білок центрифугували протягом 1 год при 100000 g. Супернатант наносили на колонку з ДЕАЕ-сефарозою (4 × 45 см), зрівноважену тим же буфером. Елюцію з колонки проводили лінійним градієнтом [0–0,5 М] NaCl. Загальний об'єм градієнта складав 900 мл. Міозин сходив з колонки в межах концентрацій NaCl 0,07–0,14 М. Фракції цього піка збирали і діалізували проти буфера 0,05 М КСl, 5 мМ імідазол, рН 6,2, 0,5 мМ ДТТ, 1 мМ NaN₃. Утворений осад міозину збирали центрифугуванням і розчиняли в буфері 0,5 М КСl, 5 мМ трис-НСl, рН 7,5, 1 мМ NaN₃, 0,5 мМ ДТТ. Активність міозинової АТФази вимірювали за температури 37 °С у середовищі загальним об'ємом 1,8 мл такого складу: 20 мМ імідазол, рН 7,5, 5 мМ CaCl₂, 2,5 мМ MgCl₂, 1 мМ ЕДТА, 0,5 мМ ДТТ, 1 мМ АТФ, 0,5 або 0,05 М КСl, 0,14 мг/мл білка.

Кількість утвореного під час гідролізу АТФ неорганічного фосфату визначали за методом Фіске-Суббароу [25]. Активність АТФази міозину виражали в мкмоль Φ_{H} /хв на 1 мг білка.

Кінетику СПП актоміозину реєстрували за зміною оптичної густини актоміозину при довжині хви-

лі 450 нм і температурі 25 °С протягом 20 хв на спектрофотометрі «Spekord M-40» (ФРН). Реакційна суміш для реакції СПП актоміозину містила 20 мМ трис-НСl, рН 7,5, 0,15 КСl, 1 мМ MgCl₂, 0,1 мМ СаCl₂, концентрація актоміозину в сумарному об'ємі проби 2 мл становила 0,1 мг/мл. СПП ініціювали додаванням до середовища АТФ. Про швидкість реакції СПП судили за величиною часу $t_{1/2}$, протягом якого оптична густина актоміозину зростала до величини $D/2$, де D – оптична густина актоміозину після завершення реакції СПП.

При вивченні впливу іонів цинку на АТФазну активність міозину та СПП актоміозину ці катіони (у вигляді розчину хлориду цинку) додавали у відповідних концентраціях до середовища інкубації.

У роботі застосовано реактиви вітчизняних та іноземних виробників класу чистоти не нижче ч. д. а. Для приготування водних розчинів реактивів і середовищ інкубації використано бідистильовану та деіонізовану воду.

Результати і обговорення. Перше завдання експериментальної частини роботи полягало у дослідженні АТФазної активності міозину і актоміозину серцевого м'яза за присутності іонів Zn.

У табл. 1 наведено результати дії двовалентних катіонів (для порівняння) на АТФазну активність міозину та актоміозину, яку вимірювали за умов низької і високої іонної сили середовища за присутності 5 мМ Zn²⁺ на фоні 5 мМ Са²⁺ або 5 мМ Mg²⁺ для міозинової та актоміозинової АТФаз відповідно.

Окремо аналізували вплив іонів цинку на АТФазну активність міозину у діапазоні концентрацій від 0,1 до 5 мМ за присутності 5 мМ Са²⁺ (рис. 1). Напівмаксимальне гальмування активності АТФази спостерігали за концентрації іонів цинку 2 мМ.

У результаті проведених досліджень встановлено, що іони цинку інгібують АТФазну активність міозину серцевого м'яза. Подібну залежність пригнічуючої дії іонів цинку виявлено і для Са²⁺-АТФази еритроцитів [26].

Наступним завданням було дослідити реакцію СПП актоміозину серцевого м'яза за присутності іонів Zn. Саме на такій моделі можна вивчати молекулярні механізми скорочувальної активності м'язів. На рис. 2 представлено кінетичні криві реакції СПП актоміозину за різних концентрацій іонів цин-

Таблиця 1
АТФазна активність міозину і актоміозину серцевого м'яза (мкмоль Φ_i /год на 1 мг білка, $M \pm m$, $n = 7$)

Умови	Міозин		Актоміозин
	50 мМ КСl	0,5 М КСl	50 мМ КСl
5 мМ СаCl ₂	40,74 ± 1,68	24,09 ± 1,18	15,01 ± 0,43
5 мМ MgCl ₂	0,58 ± 0,02	2,04 ± 0,04	12,95 ± 0,29
5 мМ ZnCl ₂	1,62 ± 0,04	0,84 ± 0,03	0,48 ± 0,02

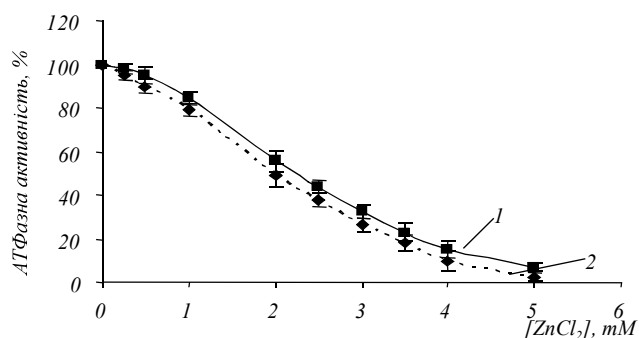


Рис. 1. Вплив іонів цинку на АТФазну активність міозину серцевого м'яза за присутності 5 мМ СаCl₂: 1 – низька (0,05 М КСl); 2 – висока (0,5 М КСl) іонна сила середовища

ку (0,01–5 мМ). При додаванні до розчину актоміозину 0,05 мМ АТФ відбувається швидка СПП актоміозину (крива 1 – контроль). При внесенні у середовище 0,1 мМ ZnCl₂ на фоні Mg²⁺ перебіг кривої СПП майже не змінюється (крива 2). За поступового збільшення концентрації катіонів Zn²⁺ (криві 2–5) процес СПП пригнічується: зменшується не лише її величина, але й швидкість (зростає $t_{1/2}$). Це засвідчує, що катіони Zn²⁺ уповільнюють перебіг реакції СПП актоміозину, а за певної концентрації (1 мМ і більше) зовсім її пригнічують.

Отже, при вивченні ефектів впливу іонів цинку на АТФазну активність міозину і актоміозину та реакцію СПП актоміозину виявлено інгібування обох процесів: за концентрації 5 мМ Zn²⁺ пригнічують активність міозинової і актоміозинової АТФаз, а за концентрації 1 мМ – значно гальмують Mg²⁺-залежну реакцію СПП актоміозину.

Для порівняння на рис. 3 представлено дані дослідження СПП актоміозину та АТФазної активності актоміозину і міозину серцевого м'яза за присутності 1 мМ Zn²⁺ та інших двовалентних катіонів. З діаграми випливає, що єдиного характеру дії іонів металів на ці процеси не прослідковується. Так, за

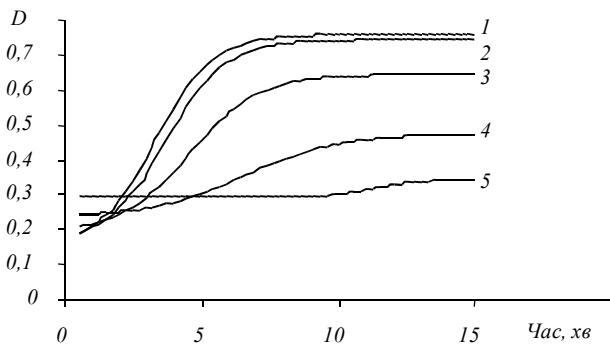


Рис. 2. Типові кінетичні криві реакції суперпреципітації актоміозину серцевого м'яза при додаванні різних концентрацій ZnCl₂ (мМ): 1 – без Zn²⁺ (контроль); 2 – 0,1; 3 – 0,5; 4 – 1; 5 – 5

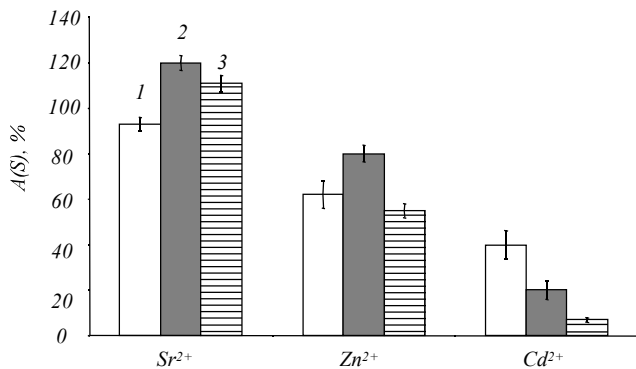


Рис. 3. Відносна ефективність впливу іонів металів (Me²⁺, 1 мМ) на суперпреципітацію (S) (I) актоміозину та АТФазну активність (A) актоміозину (2) і міозину (3) серцевого м'яза. За 100% прийнято значення цих параметрів за присутності Mg²⁺ (для суперпреципітації та АТФазної активності актоміозину) або Ca²⁺ (для АТФазної активності міозину), але за відсутності Me²⁺ (M ± m, n = 7)

присутності іонів стронцію відбувається активація СПП та АТФазної активності актоміозину і міозину [27], а за присутності іонів кадмію, навпаки, – значне інгібування обох цих процесів [28].

У дослідженні впливу іонів цинку на СПП актоміозину та АТФазну активність міозину і актоміозину серцевого м'яза зафіксовано інгібування обох цих процесів. Більшість літературних даних свідчить на користь того, що регуляція АТФазної активності міозину двовалентними іонами відбувається завдяки безпосередньому зв'язуванню катіонів з білком. З іншого боку, роль іонів металів може полягати у створенні або стабілізації певної конформації білкової молекули [29], необхідної для забезпечення каталітичної дії міозину як ферменту. Тобто специфічну дію катіонів можна пояснити як безпосереднім впливом на активний центр білка іо-

нів, що зв'язуються, так і опосередкованим впливом катіонів через зміну конформації макромолекули в цілому. Але питання щодо взаємовідношення шляхів реалізації регуляторних ефектів двовалентних іонів (як прояв конкуренції між прямою (через активні центри) та опосередкованою (Me²⁺-АТФ) дією катіонів) залишається дискусійним.

Цілком зрозуміло, що здатність іонів металів взаємодіяти з різними функціональними системами, зокрема, АТФазою скоротливих білків неоднакова і визначається їхніми фізико-хімічними властивостями [30, 31]: іонним радіусом, ентальпією гідратації, різною спорідненістю до АТФ та функціонально важливих груп макромолекули. Так, катіони Sr²⁺ утворюють стійкі комплекси з лігандами з високою електронегативністю, Zn²⁺ характеризується значною міцністю утворюваного зв'язку з лігандами з низькою електронегативністю, що містять фосфор і сірку, а катіони Cd²⁺ відрізняються високою спорідненістю до SH-груп.

Фізико-хімічні характеристики іонів металів, такі як енергія активації, спорідненість до електрона, іонна та електрична провідність, коефіцієнт дифузії у водних розчинах, мають близькі значення. У той же час відомо, що багато ферментів виявляють селективність відносно певного катіона. У іонів Me²⁺ відсутня чітко виражена вибірковість, направлена на взаємодію лише з електрон-донорними групами активного центра ферментів. Me²⁺ також властива здатність до комплексоутворення із субстратами, тому залежність характеру інгібування металами ферментів із зростанням концентрації Me²⁺ іноді змінюється нелінійно. Відомо, що деякі катіони двовалентних металів (наприклад, Zn²⁺ і Cd²⁺) за концентрацій 10⁻²–10⁻⁴ М пригнічують активність більшості ферментів, тоді як інші (Ca²⁺, Sr²⁺ і Mg²⁺) за цих концентрацій не проявляють помітного ефекту [30].

У водному розчині кожний іон оточений оболонкою з молекул води і, таким чином, утворюється первинна зона гідратації. Кількість іонів у ній є координаційним числом. У ділянці первинної зони гідратації внаслідок порушення структури розчинника змінюється його діелектрична проникність. Розрізняють ще дві зони гідратації: вторинну і зону, яку називають межею повної сольватації. За звичайних умов здатність гідратуватися залежить від

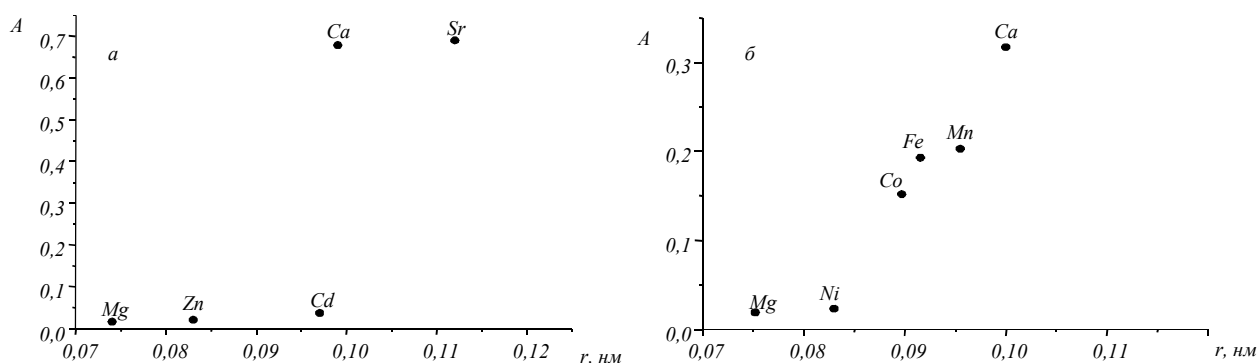


Рис. 4. Залежність АТФазної активності міозину (A , мкмоль $\Phi_{\text{H}}/\text{хв}$ на 1 мг білка) за присутності різних двовалентних іонів Me^{2+} від іонного радіуса (a – власні дані; b – літературні джерела [32])

природи іона, його заряду, розміру, будови електронної оболонки, концентрації розчинника. Гідратуєча здатність зменшується у ряду: $\text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$. Гідратація змінює властивості не лише розчинника, але й іонів. При гідратації зазнає змін і ентропія розчину ΔS . Якщо гідратація супроводжується значним порушенням структури розчинника (деструктуванням), то ентропія розчину зростає. Якщо структура розчинника при гідратації впорядковується, то ΔS зменшується [31]. На нашу думку, спорідненість катіонів до ділянок зв'язування та здатність впливати на АТФазну активність, займаючи ці ділянки, визначається іонним радіусом катіона (табл. 2). АТФазна активність міозину є максимальною за присутності Ca^{2+} . Катіони з меншими іонними радіусами активують АТФазу значно слабше. На рис. 4 представлено дані, які вказують на залежність АТФазної активності міозину від іонного радіуса катіона.

Отже, активність міозинової АТФази залежить від типу катіона, корелює з його іонним радіусом, відповідно змінюючись при цьому. Виняток становить Cd^{2+} , який хоча й має близькі до Ca^{2+} заряд і радіус негідратованого катіона, однак пригнічує АТФазну активність. У катіона Sr^{2+} внаслідок великого іонного радіуса значно менша спорідненість до ділянки зв'язування двовалентних катіонів порівняно з Ca^{2+} і Mg^{2+} .

В експериментах з вивчення впливу іонів металів на реакцію СПП швидкість цього процесу була різною залежно від катіона, що додавався. Двовалентні катіони за їхнім впливом на СПП можна умовно поділити на дві групи. Перша – це невеликі за розміром двовалентні катіони, які міцно зв'язуються

з АТФ і утворюють субстратний комплекс в активному центрі голівки міозину. Основним представником цієї групи є Mg^{2+} і деякою мірою Mn^{2+} . Другу групу складають великі за розміром катіони, які слабо зв'язуються в активному центрі міозину. Головним у цій групі є Ca^{2+} , його замісниками можуть бути Sr^{2+} і Ba^{2+} .

Якщо прослідкувати за зміною радіусів іонів за підгрупами Ca^{2+} - Sr^{2+} - Ba^{2+} і Zn^{2+} - Cd^{2+} - Hg^{2+} , то радіуси однаково заряджених іонів зростають. Якщо двовалентні катіони розглядати як атоми, що не мають двох електронів і відповідно володіють певною здатністю компенсувати цей дефіцит, то підсилення пригнічуючого ефекту в Me^{2+} варто очікувати зі збільшенням сумарних значень енергії першого і другого потенціалів іонізації (E) цих катіонів. Зрозуміло, що чим більшу енергію необхідно витратити на їхнє вилучення, тим сильніше відповідні катіони будуть прагнути ліквідувати дефіцит електронної густини, що утворився [31]. Найдоступнішими для цього в молекулах ферментів можуть бути, перш за все, електрон-донорні групи активного центра. В активному центрі існують аніонні ділянки, які несуть негативний заряд. Якщо ж катіони Me^{2+} розглядати як атоми, що несуть позитивні заряди (z) і мають певні розміри (r , нм), то іншим, не менш суттєвим фактором, який визначає здатність цих катіонів до взаємодії з негативно зарядженими амінокислотними залишками ферментів (по типу іонних зв'язків), може бути величина їхньої електростатичної енергії (z^2/r). Але за рівних зарядів ця електростатична характеристика враховує, головним чином, розмір катіонів, які до того ж перебувають у гідратованому стані.

Таблиця 2
Фізико-хімічні характеристики катіонів двовалентних металів [30, 31]

Me ²⁺	Іонний радіус, нм	Ентальпія гідратації ΔH , кДж/моль	z^2/r , eВ	E , eВ	$E-\Delta H$, eВ	W , eВ
Sr	0,112	1486	3,33	16,72	1,43	4,76
Ca	0,099	1653	3,85	17,98	1,21	5,06
Mg	0,074	1965	5,41	22,67	2,43	7,84
Zn	0,083	2094	4,82	27,35	5,86	10,68
Cd	0,097	1860	4,04	25,89	6,86	10,90

Оточені молекулами води катіони металів частково компенсують дефіцит своєї електронної густини за рахунок взаємодії з кисневими атомами. Кількісною мірою цього процесу є енергія гідратації (ΔH) катіонів. Але насичення дефіциту електронної густини катіонів буде послаблювати їхні ковалентні характеристики, які визначаються параметром E , і тим сильніше, чим більше значення ΔH цього катіона. Останнє враховується значенням переходу ($E - \Delta H$), тобто ковалентними характеристиками катіонів, які ефективно проявляються за умов гідратації.

Зіставлення значення інгібування для катіонів за концентрації 1 мМ (порівняно з контролем, рис. 3) з сумарною величиною електростатичної та ковалентної характеристик (табл. 2) виявляє збіг між збільшенням пригнічуючого ефекту серед катіонів металів та зростанням величини W : $W = (z^2/r) + (E - \Delta H)$. Це дає можливість порівняти інгібування АТФазної активності катіонами двовалентних металів з їхньою здатністю компенсувати дефіцит своєї електронної густини.

Висновки. Проведені дослідження ефектів впливу іонів цинку на АТФазну активність міозину та СПП актоміозину серцевого м'яза засвідчили, що Zn^{2+} , вірогідно, здатен 1) замінити іони кальцію або магнію, хоча таке заміщення менш ефективно для реалізації реакції СПП та АТФ-гідролізного процесу, і 2) модулювати актин-міозинову взаємодію, змінюючи функціональні характеристики актоміозинових макромолекул м'яза. Отримані результати розширюють уявлення про механізми впливу фізико-хімічних чинників середовища, зокрема, іонів цинку на ферментативну активність АТФ-гідроліз, а саме – міозинової АТФази міокарда.

K. I. Bogutska, Yu. I. Prylutskyi

Influence of zinc ions on myosin ATPase activity and superprecipitation reaction of actomyosin of cardiac muscle

Taras Shevchenko National University of Kyiv
64, Volodymyrska Str., Kyiv, Ukraine, 01601

Summary

Aim. To study the influence of zinc ions on the ATP-hydrolase reaction, catalyzed by myosin, and the superprecipitation (SPP) reaction of actomyosin cardiac muscle. **Methods.** Preparative protein chemistry, ion-exchange chromatography and optical spectroscopy. **Results.** It was shown that zinc ions in the range of concentrations 0.1–5 mM inhibit the Ca^{2+} -ATPase myosin activity and Mg^{2+} -dependent SPP reaction of actomyosin cardiac muscle. The original results were compared with the well-known data on the influence of other bivalent ions – strontium and cadmium – on the above processes. **Conclusions.** Zinc ions, probably by replacing the calcium and magnesium ions in the SPP reaction and ATP-hydrolase process, can modulate the actin-myosin interaction by changing the functional characteristics of muscle actomyosin macromolecules. The obtained results extend the existing understanding of the mechanisms of physical and chemical environmental factors influence, in particular metal ions, on the enzymatic activity of ATP-hydrolases, namely myocardium myosin ATPase.

Key words: myosin, actomyosin, ATPase, zinc ions, cardiac muscle.

Е. И. Богоуцкая, Ю. И. Прилуцкий

Влияние ионов цинка на АТФазную активность миозина и реакцию суперпреципитации актомиозина сердечной мышцы

Резюме

Цель. Исследовать влияние ионов цинка на АТФ-гидролазную реакцию, катализируемую миозином, и реакцию суперпреципитации (СПП) актомиозина сердечной мышцы. **Методы.** Препаративная белковая химия, ионообменная хроматография и оптическая спектроскопия. **Результаты.** Показано, что в диапазоне концентраций 0,1–5 мМ ионы цинка ингибируют Ca^{2+} -АТФазную активность миозина и Mg^{2+} -зависимую реакцию СПП актомиозина сердечной мышцы. Проведено сравнение оригинальных результатов с известными данными по влиянию других двухвалентных ионов – стронция и кадмия – на вышеупомянутые процессы. **Выводы.** Ионы цинка, вероятно, замещая ионы кальция и магния в реакции СПП и АТФ-гидролазном процессе, могут модулировать актин-миозиновое взаимодействие, изменяя функциональные характеристики актомиозиновых макромолекул мышцы. Полученные ре-

зультаты расширяют существующие представления о механизмах влияния физико-химических факторов среды, в частности, ионов металлов на ферментативную активность АТФ-гидролаз, а именно – миозиновой АТФазы миокарда.

Ключевые слова: миозин, актомиозин, АТФаза, ионы цинка, сердечная мышца.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Suprun A. D., Danilova V. M., Prylutsky Yu. I., Shut A. M.* Physics of functioning proteins.–Kyiv: Way, 2004.–90 p.
2. *Skalniy A. V., Rudakov I. A.* Bioelements in medicine.–Moscow: Onix 21 Century, 2004.–272 p.
3. *Okuneva G. N., Cherniavskii A. M., Levicheva E. N., Volkov A. M., Trunova V. A., Zvereva V. V.* Content of microelements in left ventricular myocardium of patients with ischemic heart disease. Data of roentgenofluorescent analysis with the use of synchrotron irradiation // *Kardiologiya.*–2006.–**46**, N 10.–P. 13–17.
4. *Hirano T., Murakami M., Fukada T., Nishida K., Yamasaki S., Suzuki T.* Roles of zinc and zinc signaling in immunity: zinc as an intracellular signaling molecule // *Adv. Immunol.*–2008.–**97**.–P. 149–176.
5. *Maret W.* Metals on the move: zinc ions in cellular regulation and in the coordination dynamics of zinc proteins // *Biomaterials.*–2011.–**24**, N 3.–P. 411–418.
6. *Jing M. Y., Sun J. Y., Wang J. F.* The effect of peripheral administration of zinc on food intake in rats fed Zn-adequate or Zn-deficient diets // *Biol. Trace Elem. Res.*–2008.–**124**, N 2.–P. 144–156.
7. *Lopez V., Keen C. L., Lanoue L.* Prenatal zinc deficiency: influence on heart morphology and distribution of key heart proteins in a rat model // *Biol. Trace Elem. Res.*–2008.–**122**, N 3.–P. 238–255.
8. *Torres C., Jarreta B. M., Alegret R., Hernandez del Rincon J. P., Falcon M., Gomez Zapata M., Perez-Carceles M. D., Osuna E., Luna A.* Analysis of ionic ratios in the interventricular wall and their relation with cardiac damage as seen in anatomo-pathological and cardiac biomarkers // *Leg. Med. (Tokyo).*–2009.–**11**, Suppl 1.–P. S360–S362.
9. *Malavolta M., Giacconi R., Piacenza F., Santarelli L., Cipriano C., Costarelli L., Tesei S., Pierpaoli S., Basso A., Galeazzi R., Lattanzio F., Mocchegiani E.* Plasma copper/zinc ratio: an inflammatory/nutritional biomarker as predictor of all-cause mortality in elderly population // *Biogerontology.*–2010.–**11**, N 3.–P. 309–319.
10. *Valko M., Morris H., Cronin M. T.* Metals, toxicity and oxidative stress // *Curr. Med. Chem.*–2005.–**12**, N 10.–P. 1161–1208.
11. *Glushchenko N., Skalniy A.* Toxicity of zincnanoparticles and their biological properties // *Actual problems of transport medicine.*–2010.–N 3.–P. 118–121.
12. *Liu Q., Cai H., Xu Y., Xiao L., Yang M., Wang P.* Detection of heavy metal toxicity using cardiac cell-based biosensor // *Biosens. Bioelectron.*–2007.–**22**, N 12.–P. 3224–3229.
13. *Lech T., Sadlik J. K.* Zinc in postmortem body tissues and fluids // *Biol. Trace Elem. Res.*–2011.–**142**, N 1.–P. 11–17.
14. *Maret W.* Molecular aspects of human cellular zinc homeostasis: redox control of zinc potentials and zinc signals // *Biomaterials.*–2009.–**22**, N 1.–P. 149–157.
15. *Palmer B. M., Vogt S., Chen Z., Lachapelle R. R., Lewinter M. M.* Intracellular distributions of essential elements in cardiomyocytes // *J. Struct. Biol.*–2006.–**155**, N 1.–P. 12–21.
16. *Anzellotti A. I., Farrell N. P.* Zinc metalloproteins as medicinal targets // *Chem. Soc. Rev.*–2008.–**37**, N 8.–P. 1629–1651.
17. *Korichneva I.* Zinc dynamics in the myocardial redox signaling network // *Antioxid. Redox Signal.*–2006.–**8**, N 9–10.–P. 1707–1721.
18. *Tuncay E., Bilginoglu A., Sozmen N. N., Zeydanli E. N., Ugur M., Vassort G., Turan B.* Intracellular free zinc during cardiac excitation-contraction cycle: calcium and redox dependencies // *Cardiovasc. Res.*–2011.–**89**, N 3.–P. 634–642.
19. *Becker J. S., Breuer U., Hsieh H. F., Osterholt T., Kumtabtim U., Wu B., Matusch A., Caruso J. A., Qin Z.* Bioimaging of metals and biomolecules in mouse heart by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry and secondary ion mass spectrometry // *Anal. Chem.*–2010.–**82**, N 22.–P. 9528–9533.
20. *Bozym R. A., Chimienti F., Giblin L. J., Gross G. W., Korichneva I., Li Y., Libert S., Maret W., Parviz M., Frederickson C. J., Thompson R. B.* Free zinc ions outside a narrow concentration range are toxic to a variety of cells *in vitro* // *Exp. Biol. Med.* (Maywood).–2010.–**235**, N 6.–P. 741–750.
21. *Atahan E., Ergun Y., Kurutac E. B., Alici T.* Protective effect of zinc aspartate on long-term ischemia-reperfusion injury in rat skeletal muscle // *Biol. Trace Elem. Res.*–2010.–**137**, N 2.–P. 206–215.
22. *Antonov A. R., Vas'kina E. A., Cherniakin Iu. D.* Exchange of bio-metals in myocardial infarction: a clinical and experimental study // *Patol. Fiziol. Eksp. Ter.*–2009.–N 4.–P. 8–10.
23. *Kamalov G., Ahokas R. A., Zhao W., Shahbaz A. U., Bhattacharya S. K., Sun Y., Gerling I. C., Weber K. T.* Temporal responses to intrinsically coupled calcium and zinc dyshomeostasis in cardiac myocytes and mitochondria during aldosterone // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*–2010.–**298**, N 2.–P. H385–H394.
24. *Margossian S. S.* Reversible dissociation of dog cardiac myosin regulatory light chain 2 and its influence on ATP hydrolysis // *J. Biol. Chem.*–1985.–**260**, N 25.–P. 13747–13754.
25. *Severin S. E., Solov'eva G. A.* Biochemical praktics.–Leningrad: LGU, 1989.–509 p.
26. *Hogstrand C., Verboost P. M., Wendelaar Bonga S. E.* Inhibition of human erythrocyte Ca²⁺-ATPase by Zn²⁺ // *Toxicology.*–1999.–**133**, N 2–3.–P. 139–145.
27. *Bogutska K., Minchenko P., Minchenko O.* The influence of strontium ions on conformational changes of cardiac and skeletal muscles actomyosin // *Bulletin of Kiev National Taras Shevchenko University. Biology.*–2008.–Is. 52–53.–P. 24–26.
28. *Bogutska K., Minchenko P.* The influence of cadmium ions on the superprecipitation reaction of cardiac and skeletal muscles actomyosin // *Bulletin of Kiev National Taras Shevchenko University. Biology.*–2010.–Is. 56.–P. 21–23.
29. *Tikunov B. A.* The effect of magnesium ions on the two-stage kinetics of superprecipitation and ATPase activity of natural actomyosin // *Biokhimiia.*–1990.–**55**, N 5.–P. 822–828.
30. *Krupianko V. I.* Distribution of the inhibiting activity among bivalent metal cations // *Biokhimiia.*–1988.–**53**, N 6.–P. 905–911.
31. *The general chemistry* / Ed. E. Sokolovskaya, G. Vovchenko, L. Goosej.–Moscow: MGU, 1980.–726 p.
32. *Peysler Y. M., Ben-Hur M., Werber M. M., Muhlrud A.* Effect of divalent cations on the formation and stability of myosin subfragment 1-ADP-phosphate analog complexes // *Biochemistry.*–1996.–**35**, N 14.–P. 4409–4416.

UDC 577.34(35):577.152
Received 20.04.11