

УДК 577.15.04+577.3+591.39

А.А. Симонян, Р.Б. Бадалян, Л.А. Симонян, Р.А. Степанян

Сдвиги активности АТФ-фосфогидролазы в митохондриях сердца и мозга кошек при экспериментальном инфаркте миокарда под воздействием пролин-богатого полипептида

(Представлено академиком А.А.Галояном 10/IX 2002)

Установлено, что группа пролин-богатых полипептидов (ПБП), выделенных из нейросекреторных гранул гипоталамо-гипофизарной системы крупного рогатого скота и обладающих выраженным иммуномодулирующими и нейропротекторными свойствами, активирует микрофаги и защищает мышей от смертельного количества грамотрицательных бактерий и других инфекций [1-4]. В наших опытах, проведенных *in vitro*, показано, что под воздействием ПБП значительно повышается активность Mg^{2+} -АТФазы в интактных митохондриях мозга и печени белых крыс, в то время как Ca^{2+} -АТФаза активируется только в митохондриях печени [5]. Полученные данные позволяют сделать предположение о регулирующей роли исследуемого полипептида в энергетическом обмене, в частности, в энергетическом метаболизме при некоторых патологических состояниях организма.

В представленной работе исследовано воздействие цитокина ПБП-1 (Ala-Glu-Ala-Pro-Glu-Pro-Ala-Glu-Pro-Ala-Glu-Pro-Glu-Val-Tyr) на активность Mg^{2+} - и Ca^{2+} -АТФаз в интактных митохондриях сердца и мозга кошек при экспериментальном инфаркте миокарда в условиях *in vivo*.

Инфаркт миокарда был вызван наложением узла на нижнюю ветвь левой коронарной артерии сердца кошки у нижнего края левого желудочка в условиях глубокого наркоза и искусственного дыхания. Другой группе животных в условиях описанной модели инфаркта миокарда в бедренную артерию вводили 46 μ ПБП. В контрольной группе также в условиях искусственного дыхания и наркоза вскрыли грудную клетку и оставили ее в открытом состоянии до конца эксперимента. В каждой группе было по 4 животных.

Ядра гомогенатов мозга и миокарда выделяли центрифугированием в течение 10 мин в условиях 800g, а митохондрии - в течение 15 мин, соответственно, в условиях 18000 и 12000g. Раствор осаждения митохондрий содержал 0.25 М сахарозы - 0.02 М трис-НС1 буфера, рН 7.4. В выделенных митохондриях активность Mg^{2+} - и Ca^{2+} -АТФаз определяли в следующей инкубационной смеси (объем 2 мл): 1.6 мл 0.25 М сахарозы - 0.02 М трис-НС1 буфера, 0.2 мл суспензии митохондрий (в пересчете на 2-3 мг белка), 4 мг АТФ, растворенной в 0.25 М сахарозы (рН 7.4) и 0.5 mM Ca^{2+} или Mg^{2+} . Инкубацию проводили в течение 30 мин при 26°C. Количество неорганического фосфата определяли по Лоури и сотр. [6] и вычисляли на 1 мг белка. Определение белка проводили по методу Лоури и сотр. [7]. Синтез использованного в опытах пептида был осуществлен в лаборатории Фелтера (Германия) [8]. Полученные данные подвергнуты статистической обработке.

Достоверность разницы средних величин определяли по t-коэффициенту Стьюдента [9].

Результаты экспериментов (табл. 1) показали, что активность общей АТФазы (без добавления Mg^{2+} и Ca^{2+}) в выделенных митохондриях сердечной ткани при инфаркте миокарда достоверно (22%) угнетается по сравнению с контрольной группой животных. Активность Mg^{2+} -зависимой АТФазы угнетается на 8%, в то время как активность Ca^{2+} -АТФазы существенных изменений не претерпевает. При введении ПБП в митохондриях сердца общая каталитическая активность фермента не только восстанавливается, но и возрастает на 69%. В случае Mg^{2+} -АТФазы этот рост составил 16%. При тех же условиях активность Ca^{2+} -АТФазы угнетается.

Таблица 1

Влияние ПБП на АТФазную активность митохондрий сердца кошки (ΔP в мкатомах /мг белка, 30 мин) при экспериментальном инфаркте миокарда, $M \pm SME$, $n = 8$

Условия эксперимента	Контроль	Инфаркт миокарда	Сдвиг активности %	Инфаркт миокарда + ПБП	Сдвиг активности %
Без активатора	$3,40 \pm 0,36$	$2,66 \pm 0,11$ $p < 0,001$	22, угнетение	$4,50 \pm 0,36$ $p < 0,001$	69, рост
Mg^{2+}	$6,62 \pm 0,92$	$6,11 \pm 0,87$ $p < 0,005$	8, угнетение	$7,11 \pm 0,75$ $p < 0,001$	16, рост
Ca^{2+}	$5,55 \pm 0,70$	$5,61 \pm 0,73$	-	$5,14 \pm 0,35$ $p < 0,02$	8,4 угнетение

Как показывают приведенные в табл. 2 данные, при экспериментальном миокардите общая АТФазная активность в выделенных митохондриях мозга возрастает на 29%. Однако введение ПБП заметно угнетает активность фермента. Активность Mg^{2+} -АТФазы - на 25%, а Ca^{2+} -АТФазы угнетается на 41%.

Таблица 2

Влияние ПБП на АТФазную активность митохондрий мозга кошки (ΔP в мкатомах/ мг белка, 30 мин) при экспериментальном инфаркте миокарда, $M \pm SME$, $n = 8$

Условия эксперимента	Контроль	Инфаркт миокарда	Сдвиг активности %	Инфаркт миокарда + ПБП	Сдвиг активности %
Без активатора	$4,65 \pm 0,88$	$6,03 \pm 0,93$ $p < 0,001$	29, рост	$3,04 \pm 0,46$ $p < 0,001$	50, угнетение
Mg^{2+}	$10,49 \pm 1,66$	$9,50 \pm 1,02$ $p < 0,05$	10, угнетение	$7,11 \pm 0,96$ $p < 0,001$	25, угнетение
Ca^{2+}	$8,64 \pm 1,20$	$8,57 \pm 1,04$	-	$5,05 \pm 0,90$ $p < 0,001$	41, угнетение

Таким образом, в митохондриях сердца кошек при экспериментальном миокардите общая активность АТФазы значительно угнетается по сравнению с контрольной группой. В меньшей степени угнетается активность Mg^{2+} -зависимой АТФазы. При тех же условиях каталитическая активность Ca^{2+} -фермента значительных изменений не претерпевает. Под воздействием введенного животным ПБП активность общей, а также Mg^{2+} -АТФазы статистически достоверно возрастает. Иначе обстоит дело с митохондриями, выделенными из мозга. Без активаторов активность фермента при миокардите по сравнению с контролем достоверно возрастает. При введении ПБП, по сравнению с контролем, во всех группах каталитическая активность АТФазы значительно угнетается. Таким образом, влияние ПБП, выделенного из нейросекреторных гранул гипофизарно-гипоталамической системы, на активность Mg^{2+} - и Ca^{2+} -зависимых АТФаз в интактных митохондриях ткани сердца и мозга неодинаково и, по всей вероятности, осуществляется разными механизмами.

Выражаем нашу искреннюю признательность академику А.А. Галояну за любезно предоставленный нам препарат ПБП.

Институт биохимии им. Г.Х. Бунятына НАН РА

Литература

1. *Galoyan A. A.* Biochemistry of Novel Cardioactive Hormones and Immunomodulators of the Functional System Neurosecretory Hypothalamus-Endocrine Heart. Nauca publishers. Moscow. 1997. 240 p.
2. *Априкян В. С., Галоян К. А., Галоян А. А.* - Нейрохимия. 1998. Т. 15. С. 189-195.
3. *Априкян В. С., Галоян А. А.* - Нейрохимия. 2000. Т. 17. N1. С. 60-63.
4. *Априкян В. С., Галоян А. А.* - Medical Sciences of Armenia. 1999. V. 39. N4. P. 29-36.
5. *Симомян А. А., Бадалян Р. Б., Симомян Л. А., Степанян Р. А., Галоян А. А.* - Нейрохимия. 2002. Т. 19. N 2. С. 143-145.
6. *Lowry O. H., Lopez J. A.* - Biol. Chem. 1946. V. 162. P. 421.
7. *Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randal R. J.* - J. Biol. Chem. 1951. V. 193. P. 265-275.
8. *Voelter W., Kapurniotu A., Nihelic M. et al.* - Neurochem. Res. 1995. V. 20. N1. P.53-59.
9. *Бессмертный Б.С.* Математическая статистика в клинической, профилактической и экспериментальной медицине. М. Медицина. 1967. 303 с.

Ա. Ա. Միմոնյան, Ռ. Բ. Բադալյան, Լ. Ա. Միմոնյան, Ռ. Ա. Ստեփանյան

ԱՏՖ-ֆոսֆոհիդրոլազի ակտիվության տեղաշարժերը կատուների սրտի և ուղեղի միտոքոնդրիումներում պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդի ներգործությամբ սրտամկանի փորձարարական ինֆարկտի դեպքում

Հետազոտությունների արդյունքները ցույց են տվել, որ սրտամկանի փորձարարական ինֆարկտի դեպքում կատուների սրտի ամբողջական միտոքոնդրիումներում ընդհանուր ԱՏՖ-ազի ակտիվությունը ակտիվատորների բացակայության դեպքում ստուգիչի համեմատությամբ զգալիորեն ճնշվում է: Համեմատաբար քիչ չափով ճնշվում է նաև Mg^{2+} - ԱՏՖ-ազի ակտիվությունը: Նույն պայմաններում Ca^{2+} - ԱՏՖ-ազի ակտիվությունը նշանակալի տեղաշարժերի չի ենթարկվում: Սակայն պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդի (ՊՀՊ) ներարկման դեպքում հավաստի աճում է ինչպես ընդհանուր, այնպես էլ Mg^{2+} -ԱՏՖ-ազի ակտիվությունը: Փորձի նույն պայմաններում ուղեղի միտոքոնդրիումներում ՊՀՊ-ի ազդեցությամբ հավաստի ճնշվում է ուսումնասիրված բոլոր ԱՏՖ-ազների ակտիվությունը: Այսպիսով, մեր հետազոտություններից ստացված արդյունքները վկայում են, որ սրտամկանի փորձարարական ինֆարկտի դեպքում կատուների ուղեղից և սրտից անջատված ամբողջական միտոքոնդրիումներում ՊՀՊ-ի ազդեցությունը Mg^{2+} և Ca^{2+} կախյալ ԱՏՖ-ազների կատալիտիկ ակտիվության վրա ընտրողական է: