

Исследование механизма действия кардиоактивных секреторируемых предсердием полипептидов на гемостаз

Р.М. Срапионян, З.Х. Паронян, Ф.М. Саакян

*Институт биохимии им. Г.Х. Бунятына НАН РА
0014, Ереван, ул. П. Севака, 5/1*

Ключевые слова: атриопептид, коронароактивность, ключевой регулятор, гемокоагуляция, нейрогормон

Проблема регуляции – одна из центральных в биологии, поскольку она непосредственно связана со становлением и поддержкой гомеостаза, обеспечивающего относительное постоянство организма при непрерывно меняющихся условиях его внутренней и внешней среды. Многие регуляторные процессы опосредованы пептидами – эффекторами и модуляторами соответствующих систем, контролирующими временную и пространственную последовательность жизненно важных событий, протекающих в организме. Одним из фундаментальных открытий явилось выявление эндокринной системы сердца, которое изменило наши представления о регуляции гемодинамики в организме, о механизме сохранения кардиоваскулярного гомеостаза. Морфологические и биохимические исследования позволили установить, что сократительные клетки миокарда предсердий синтезируют и секретируют в кровь пептиды, контролирующие и регулирующие гемодинамику в организме, механизм сохранения кардиоваскулярного гемостаза. Открытие пептидной регуляторной системы сердца по существу явилось ответом на два первоначально не связанных друг с другом вопроса, возникших еще в 50-е годы. Первый из них – какова природа и функция плотных, выявляемых в электронном микроскопе гранул в мышечных клетках миокарда предсердий, отличающихся от кардиоцитов желудочков сердца человека и лабораторных животных [7]. Второй – какова природа и тканевое происхождение пептидов, синтезируемых и секретируемых предсердиями.

Структура и биологические свойства кардиоактивных атриопептидов

Феномен нейросекреции при изучении функциональной морфологии предсердий крыс описан также Галояном А.А. и сотр. [1,3]. Дальнейшие наши исследования в направлении поиска и идентификации

кардиоактивных факторов в указанном органе привели к обнаружению кроме гипоталамического нейrogормона С (НС) – подобных соединений 7 новых кардиоактивностей [5,6]. Исследование физико-химических свойств искомых соединений с Мг равным от 1600 до 15 000 Д, подтвердило локализацию 4 из них в предсердном, а 3 – в ушковом регионах. Изучение фармакологических свойств указанных соединений на сердечно-сосудистой системе выявило выраженную коронарорасширяющую, хотя и отличающуюся активность у всех семи факторов по отдельным коронарным эффектам (латентный период, продолжительность действия, максимальная величина оттока крови из коронарных сосудов). Полагаем, что отмеченные расхождения обусловлены структурными различиями. Факт относительно существования множественных форм коронароактивных соединений сердца альтернативно мы допускаем и объясняем либо переходом высокомолекулярных форм под действием протеаз в более активные низкомолекулярные пептиды, либо существованием различных путей процессинга предшествующих молекул [4]. Вычленение водорастворимых предсердных соединений в отдельную группу белков не преследовало цели разграничения понятия рецепторных и связывающих белков, поскольку многие мембранные белки – рецепторы имеют и растворимые производные, связывающие биоактивные начала. Наши наблюдения, основанные на фактическом экспериментальном материале, свидетельствуют о том, что для проявления коронарорасширяющего эффекта 4 предсердных факторов необходима целостность нейросекреторных (супраоптического и паравентрикулярного) ядер гипоталамуса. В случае электролитического повреждения указанных ядер, как и при блокаде или перерезке нерва Геринга, коронарорасширяющий эффект указанных факторов не воспроизводится [2]. В противоположность, два других фактора в аналогичных условиях проявляют характерную для них коронароактивность, что позволяет предположить "гипоталамическое" происхождение соединений, связывающихся с предсердными белками. А действие их в ЦНС, по видимому, связано с интеграцией регуляторных систем, направленных на поддержание кардиоваскулярного гомеостаза.

В этом аспекте представляют интерес данные об увеличении содержания кардиоактивных белков предсердия под действием гистамина и прозерина и, наоборот, полном их исчезновении в результате денервации сердца.

Влияние кардиоактивного атриопептида на изменение активности ключевого регулятора гемокоагуляции

Полученные данные явились предпосылкой к выяснению механизмов биогенных взаимопревращений, способствующих вазодилатации и улучшению кровообращения, особенно миокардиального кровотока под

действием искомых факторов предсердия. Феноменом, коррелирующим с вышеизложенным, является выяснение участия атриальных коронароактивных пептидов в системе гемостаза, функциональное нарушение которого, как известно, является основой возникновения патологических процессов. В этом ракурсе представляло интерес изучение одного из искомых факторов, условно обозначенным АР (атриопептид), в механизме каскадного свертывания крови на ответственном его этапе, регуляции взаимодействия ключевого фермента гемокоагуляции – маркера общего коагуляционного пути, фактора Ха (FXa) с его ингибитором, антитромбином III (АТ III), с помощью SDS-ПААГ электрофореза [8].

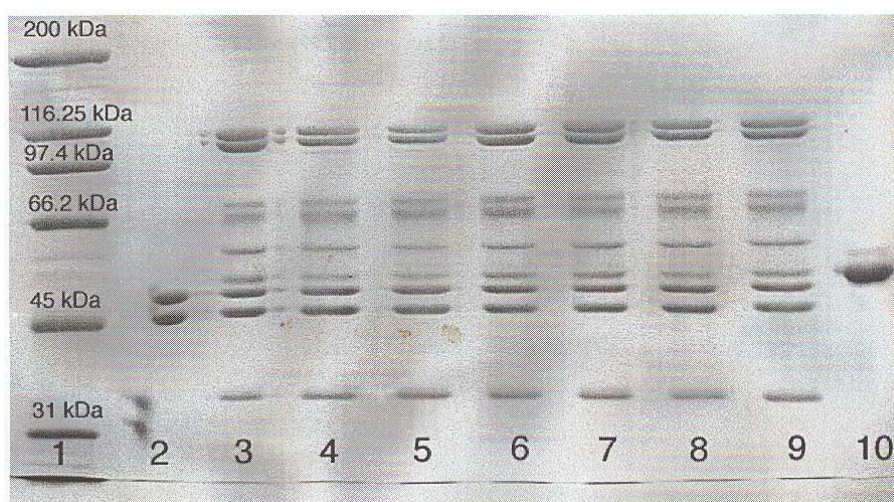


Рис.1. DDC – Na – ПААГ – ЭФ FXa, АТ III и АР: 1–Молекулярные маркеры; 2–Ха (1,5µg) 30мин; 3– [Ха (1,5µg) + АТ III (1,5µg)] 30мин; 4–{[Ха(1,5µg) + АР(8µg)] 30мин + АТ III (1,5µg)} 30мин; 5–{[Ха (1,5µg) + АР (8µg)] 30мин + АТ III (1,5µg)} 30мин; 6–{[АТ III (1,5µg) + АР(8µg)] 30мин + Ха (1,5µg)} 30мин; 7–{[АТ III (1,5µg) + АР (8µg)] 30мин + Ха (1,5µg)} 30мин; 8–[Ха (1,5µg) + АТ III (1,5µg) + АР (8µg)] 30мин; 9–[Ха (1,5µg) + АТ III (1,5µg) + АР (8µg)] 30мин; 10–АТ III (1,5µg) 30мин

Как показали результаты электрофоретического анализа взаимодействия FXa и АТ III комплекса под действием АР в различных условиях преинкубации (рис. 1), отмечена его разнонаправленная трансформация. Так, например, АР стимулирует образование FXa – АТ III комплекса, если преинкубирован одновременно в смеси с АТ III FXa, что объясняется соответственным уменьшением каждого из ингредиентов. При преинкубации АР и АТ III также отмечается стимуляция образования комплекса FXa –АТ III, однако при преинкубации с FXa наблюдается ингибция трансформации описанного процесса. Ускорение активности АР при этом приводит к образованию двух форм FXa ($Хa_a$ и $Хa_b$), образованию

модифицированного АТ III_M, нативного высвобождения АТ III, свободного FXa и продуктов его протеолиза, в том числе FXa_γ (рис. 2). При этом отмечается уменьшение формы Xa_α, его трансформация в Xa_β форму.

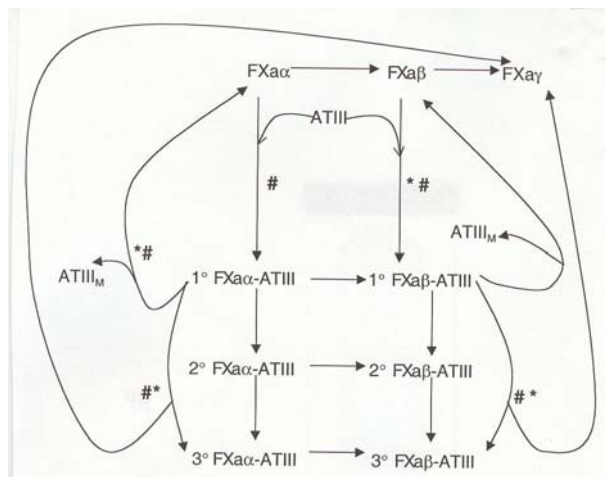


Рис.2. Схема превращения основных активных форм фактора Ха (Ха_α и Ха_β).
Образование комплекса Ха – АТ III под воздействием АР

Вышеизложенные результаты электрофоретических исследований позволяют сделать заключение об эффективном участии АР в регуляции метаболизма маркера общего коагуляционного пути FX с его ингибитором АТ III на уровне, связывающем обе системы – внутренний и внешний механизмы, объединяющиеся на стадии образования X/Xa, и предположить значимую его роль в молекулярных механизмах свертывания крови, демонстрирующую наличие нового альтернативного пути метаболизма FXa.

Поступила 12.09.12

Հեմոստազի վրա նախասրտային կարդիոակտիվ պեպտիդների ազդեցության մեխանիզմի ուսումնասիրությունը

Ռ.Մ. Սրապիոնյան, Զ.Խ. Պարոնյան, Ֆ.Մ. Սահակյան

Նախկինում մեր կողմից նախասրտերից անջատվել են կարդիոակտիվ 7 պեպտիդներ, որոնցից մեկը անվանվել է ատրիոպեպտիդ (AP): Ուսումնասիրվել է նրա ունեցած ազդեցությունը մակարդեղիության առանցքային ֆերմենտի (FXa) իր ինհիբիտորի (AT III) հետ ունեցած փոխազդեցության կարգավորմանը SDS- PAAG էլեկտրա-

ֆորեզի օգնությամբ: Ստացված տվյալները վկայում են, որ եթե նախապես FXa-ն, AT III -ը և AP-ն միաժամանակ ինկուբացվում են 30°-ում, ապա ի հայտ է գալիս կոմպլեքսի տրանսֆորմացիա FXa_α/AT III-ից FXa_β/AT III ձևի, ինչը միաժամանակ նպաստում է փոխակերպված AT III_M և FXa_α ձևերի առաջացմանը:

Ստացված տվյալները թույլ են տալիս ենթադրել հեմոստազի կարգավորման պրոցեսներում AP-ի հնարավոր մասնակցության մասին:

The study of cardioactive atriopeptide action on the hemostasis

R.M. Srapionian, Z.Kh. Paronian, F.M. Sahakian

We studied one of the discovered by us peptide secreted by the atrium, the so-called atriopeptide (AP), on the interaction of coagulation factor Xa (FXa) with anti-thrombin III (AT III), which as followed by SDS-PAAG leads to the formation of a primary complex with two bands, which is immunologically positive to both Xa and AT III. Furtherly, the bands include modified free AT III_M, native free AT III, free FXa couplet and a FXa degradation product. AP affects the formation of the components of the mixture to differing and varying extents, depending partly on pre-incubation of the AP with FXa, AT III, or a FXa/AT III mixture. Thus, AP stimulates transformation of FXa_α to FXa_β, and a FXa degradation product – FXa_γ.

Литература

1. *Галоян А.А., Ростомян М.А.* Биол. журн. Армении, 1967, т.20, 9, с.3-9.
2. *Мисирян С.С., Срапионян Р.М., Саркисян С.Ш. и др.* Участие крупноклеточных ядер гипоталамуса в осуществлении обратной связи между гипоталамусом и сердцем. Биол. журн. Армении, 1983, т.36, 8, с.706-709.
3. *Ростомян М.А., Галоян А.А.* Биол. журн. Армении, 1971, т.24, 1, с.24-30.
4. *Срапионян Р.М., Попова Т.В., Алексанян А.Р., Галоян А.А.* Коронароактивные белки сердца быка вызывают релаксацию аорты кролика. Укр. биох. журн., 1991, т.63, 6, с.20-25.
5. *Срапионян Р.М., Галоян А.А.* О наличии в сердце соединений, принимающих участие в нейрогуморальной регуляции коронарного кровообращения. ДАН АрмССР, 1973, т.58, 3, с.174-178.
6. *Срапионян Р.М., Мисирян С.С.* Разделение низкомолекулярных коронароактивных соединений сердечной мышцы сочетанием методов гель- фильтрации и электрофореза в полиакриламидном геле. Биол. журн. Армении, 1974, т.27, 6, с.88-90.
7. *Jamieson J.D., Palade G.E.* New approach of heart neurosecretion. J.Cell. Biol., 1964, 23, p.151-162.
8. *Jesty J.* Dissociation of complexes and their derivatives formed during inhibition of bovine thrombin and activated Factor X by antithrombin III. J. Biol. Chem., 1979, 254, p.1044-1049.