

А. А. ДЕМИРЧЯН

К ВОПРОСУ О ВЛИЯНИИ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТА НА ПОГЛОЩЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ МОЗГОВОЙ ТКАНЬЮ

Системе аденозинтрифосфат-аденозинтрифосфатаза (АТФ—АТФ-аза) за последнее время придается большое значение в процессах трансмембранного переноса ряда веществ в различных тканях. Установлено, что АТФ-аза принимает участие в регуляции транспорта ионов калия и натрия в эритроцитах [9], мозговой [7, 10], почечной [5] и др. тканях.

Было установлено, что АТФ *in vitro* значительно ускоряет поглощение глюкозы срезами мозговой ткани. Подобное явление наблюдается и под действием АДФ [2, 4]. Подавление активности АТФ-азы приводит к торможению поглощения глюкозы мозговой, мышечной и почечной тканями. Результаты исследований показали, что процесс транспорта ионов натрия и калия является необходимым звеном для трансмембранного переноса глюкозы [3]. Известно, что ионы натрия и калия повышают активность АТФ-азы. Таким образом, было установлено, что система АТФ—АТФ-аза принимает активное участие в транспорте глюкозы в различных тканях; это особенно четко наблюдается в мозговой ткани.

Мы проводили ряд исследований по выяснению взаимосвязи между расщеплением АТФ и поглощением глюкозы срезами мозговой ткани. Опыты были поставлены со срезами коры больших полушарий головного мозга. Инкубация проводилась на трис буфере $\text{pH}=7,4$ в течение одного часа при $t^{\circ}=37^{\circ}\text{C}$. Глюкоза определялась по Дюмазере; содержание ее в инкубируемой среде составляло 100 мг%. Неорганический фосфор в инкубируемой среде определялся по Фiske-Суббароу: АТФ—по приросту неорганического фосфора после 10-ти мин. гидролиза в 1N растворе соляной кислоты. Результаты исследований приведены на соответствующих рисунках.

Как показывают приведенные на рис. 1 данные, в присутствии ионов магния, натрия и калия количество поглощенной глюкозы срезами мозговой ткани намного больше, чем в их отсутствии. Это явление наблюдалось во всех пробах, взятых через каждые 20 мин. Под действием

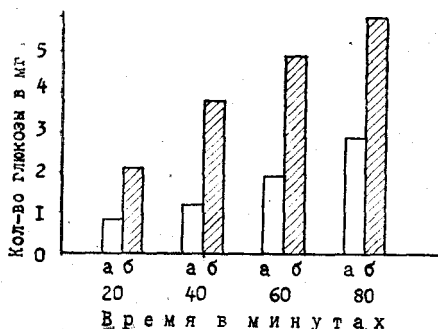


Рис. 1. Поглощение глюкозы мозговой тканью в отсутствии (а) и присутствии (б) ионов натрия, калия и магния. (Глюкоза мг/гр. ткани/час).

АТФ (рис. 2) усиливается поглощение глюкозы как в присутствии ионов магния, калия и натрия, так и в их отсутствии. Однако в присутствии этих катионов поглощение глюкозы в течение первых 40 мин. идет интен-

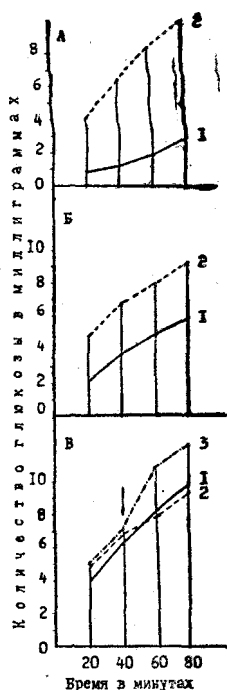


Рис. 2. Влияние АТФ на поглощение глюкозы мозговой тканью в отсутствии (А) и присутствии (Б) ионов магния, калия и натрия. 1 — контрольный опыт. 2 — при добавлении АТФ. Влияние АТФ на поглощение глюкозы мозговой тканью при повторном добавлении АТФ в инкубируемую среду (В). 1 — поглощение глюкозы в отсутствии ионов магния, калия и натрия. 2 — поглощение глюкозы в присутствии ионов магния, калия и натрия. 3 — поглощение глюкозы в присутствии ионов магния, калия и натрия при повторном добавлении АТФ через 40 мин.

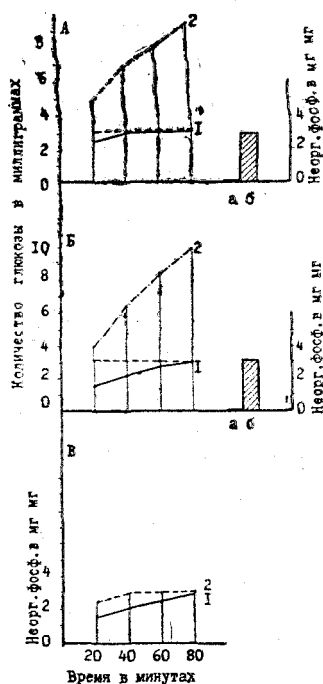


Рис. 3. Расщепление АТФ (1) и поглощение глюкозы (2) мозговой тканью в присутствии (А) и отсутствии (Б) ионов магния, калия и натрия (прерывистая линия показывает общее количество неорганического фосфора после гидролиза АТФ в инкубируемой среде). Количество неорганического фосфора в инкубируемой среде до (а) и после (б) гидролиза АТФ. Расщепление АТФ в присутствии (1) и отсутствии (2) ионов магния, калия и натрия (В).

сивнее, чем в их отсутствии, а в течение следующих 40 мин. отмечается обратное явление. Это объясняется тем, что в течение первых 40 мин. в присутствии ионов магния, калия и натрия добавленный АТФ полностью расщепляется, а в их отсутствии АТФ расщепляется постепенно и медленно; этот процесс длится в течение 80 мин. После первых 40 мин. добавление АТФ к пробам, содержащим ионы магния, натрия и калия, приводит к более усиленному поглощению глюкозы из среды, что говорит в пользу существования тесной связи между расщеплением АТФ и транспортом глюкозы. Количество неорганического фосфора в инкуби-

руемой среде, содержащей ионы магния, калия и натрия, быстро возрастает и через каждые 40 мин. доходит до предела (рис. 3). В этих опытах в течение следующих 40 мин. количество неорганического фосфора почти не возрастает. Иная картина наблюдается в опытах, где отсутствуют ионы магния, натрия и калия. Рост неорганического фосфора в этих опытах идет постепенно и медленно (как это наблюдалось и в отношении поглощения глюкозы) и длится до конца опыта, т. е. в течение 80 мин.

Как показывают данные, приведенные на рис. 3, буферная смесь (вместе с АТФ) до инкубации (а) не содержит неорганического фосфора, а после 10-ти мин. гидролиза (б) его количество составляло 3,15 и 2,97 мг, т. е. столько, сколько образуется при инкубировании мозговой ткани с АТФ. Источником образовавшегося неорганического фосфора как в растворах (после гидролиза), так и при инкубировании с тканью является АТФ, т. к. в контрольных опытах ткани выделяли в среду незначительное количество неорганических фосфатов (0,05—0,1 мг). Из данных, приведенных на рис. 3В, видно, что в присутствии ионов магния, калия и натрия в течение первых 20 мин. ткани расщепляют около 80% добавленного АТФ, а к концу первых 40 мин. добавленный АТФ полностью расщепляется и до конца опыта роста неорганического фосфора не наблюдается. Однако в отсутствие этих катионов в течение первых 20 мин. ткани расщепляют только половину добавленного АТФ, в этих условиях распад АТФ протекает постепенно и медленно, и только через 80 мин. от начала опыта наблюдается полное расщепление АТФ.

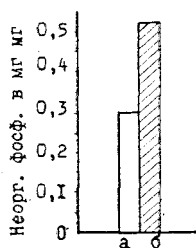


Рис. 4. Активность АТФ-азы в отсутствии (а) и присутствии (б) ионов магния, калия и натрия.

В отдельных опытах мы определяли активность АТФ-азы в присутствии и отсутствии ионов натрия, калия и магния (рис. 4). Опыты показали, что в отсутствие этих ионов активность АТФ-азы мозговой ткани значительно ниже по сравнению с активностью этого фермента в присутствии ионов магния, калия и натрия.

Вышеприведенные данные с достаточной ясностью показывают, что АТФ стимулирует транспорт глюкозы в мозговую ткань. Этот процесс связан с расщеплением АТФ и ускоряется ионами магния, калия и натрия.

В наших прежних исследованиях было показано, что подобный эффект АТФ связан с активностью АТФ-азы. В этих опытах в качестве ингибиторов и активаторов АТФ-азы мы применяли строфантин, тиоловые реагенты (парахлормеркурибензоат и N-этилmaleимид) и глутатион (восстановленный и окисленный). Можно предположить, что под действием тиоловых реагентов и глутатиона могут иметь место изменения активности и других внутриклеточных ферментов, участвующих в процессах гликолиза, что соответствующим образом могло отразиться на транспорте глюкозы (вторично).

Имея в виду это обстоятельство, в исследованиях, результаты кото-

рых приводятся в настоящем сообщении, активность АТФ-азы регулировалась добавлением и изъятием к инкубируемой среде ионов магния, натрия и калия, которые, как известно, являются активаторами мембранной АТФ-азы мозговой и ряда других тканей [9, 10].

Как показывают приведенные данные, поглощение глюкозы мозговой тканью связано с расщеплением АТФ, а расщепление АТФ, в свою очередь, связано с активностью АТФ-азы (срезов). При подавлении активности АТФ-азы (в отсутствии ионов калия, магния и натрия) наблюдается замедление расщепления АТФ и торможение поглощения глюкозы, и, наоборот, повышение активности этого фермента (в присутствии ионов калия, натрия и магния) приводит к усилению расщепления АТФ и поглощения глюкозы мозговой тканью. Таким образом, результаты наших исследований показали, что существует параллелизм между процессами поглощения глюкозы, расщеплением АТФ и активностью АТФ-азы в мозговой ткани. Следовательно, стимулирующий эффект АТФ на поглощение глюкозы мозговой тканью тесно связан с активностью мембранной АТФ-азы.

Результаты опытов также показывают, что весь неорганический фосфат, отщепленный из АТФ, находится в инкубируемой среде. Это указывает на то, что добавленный нами АТФ не проникает через клеточную мембрану и на поверхности мембраны клетки расщепляется АТФ-азой, входящей в ее состав. Существование миозина в составе клеточных мембран некоторых тканей установлено рядом авторов [1, 6, 8]. В течение долгого времени даже после полного расщепления, добавленного к инкубируемой среде АТФ, наблюдается усиленный транспорт глюкозы в мозговую ткань. Этот факт свидетельствует о том, что под действием АТФ изменяется физико-химическое состояние клеточной оболочки, что приводит к повышению ее проницаемости в отношении глюкозы. Подобное изменение проницаемости клеточной оболочки, по-видимому, длится в течение определенного времени, даже после полного расщепления АТФ.

Институт биохимии
АН Армянской ССР

Поступило 7.V 1966 г.

Ա. Շ. ԴԵՄԻՐՉՅԱՆ

ԱՌԵՆՈՋԻՆՏԻԲՈՍՅԱՏԻ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՒՂԵՂԱՅԻՆ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔԻ ԿՈՂՄԻՅ
ԳԼՅՈՒԿՈՉԱՅԻ ԿԼԱՆՄԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Փորձերը զրվել են սպիտակ առնետների ուղեղի մեծ կիսագնդերի կեղևի կտրվածքների վրա: Ստացված տվյալները ցույց են տվել, որ նատրիումի, կալիումի և մագնեզիումի իոնների ներկայությամբ ուղեղի կտրվածքների կողմից գլյուկոզայի կլանումն ընթանում է ավելի ինտենսիվ, քան նրանց բացակայությամբ:

Ադենոզինտրիֆոսֆատը (ԱՏՖ) խթանում է գլյուկոզայի կլանումը ինչպես մերոհիշյալ իոնների ներկայությամբ, այնպես էլ նրանց բացակայությամբ:

նատրիումի, կալիումի և մագնեզիումի իոնները բարձրացնում են ԱՏՖ-ազայի ակտիվությունը և նպաստում ԱՏՖ-ի արագ քայքայմանը. դրան զուգահեռ նրկատվում է գլյուկոզայի կլանման արագացում և, ընդհակառակը, այդ իոնների բացակայության դեպքում ընկճվում են ԱՏՖ-ազայի ակտիվությունը, ԱՏՖ-ի քայքայումը և գլյուկոզայի կլանումը: Ինկուբացիայի ընթացքում ԱՏՖ-ից անջատված անօրգանական ֆոսֆատը լիովին գտնվում է ինկուբացիոն միջավայրում, այդ ցույց է տալիս, որ ԱՏՖ-ը բջջի թաղանթով ներս չի թափանցում, այլ նրա (թաղանթի) մակերեսին քայքայվում է իր կազմության մեջ գտնվող ԱՏՖ-ազայի կողմից, իսկ անջատված էներգիայի հաշվին միջբջջային հեղուկից գլյուկոզան փոխադրվում է բջջի ներսը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Нейфах С. А. В кн.: Молекулярная биология, проблемы и перспективы, М., 1964.
2. Оганесян А. С., Демирчян А. А. и Чобанян К. А. В кн.: Некоторые вопросы патологии эндокринной системы, Ереван, 1965.
3. Оганесян А. С. и Григорян Д. З. Биол. журн. Армении. АН АрмССР, т. XIX, 9, 1966.
4. Оганесян А. С. и Демирчян А. А. ДАН АрмССР, 40, 285, 1965.
5. Оганесян А. С. ДАН АрмССР, 35, 177, 1962.
6. Поглазов Б. Ф. Биохимия, 27, 161, 1962.
7. Mc Ilwain H. Chemical exploration of the Brain, London, 1963.
8. Ohnishi T. J. Biochem. (Tokyo), 52, 307, 1962.
9. Post R. L. and Albricht B. D. In. Membrane transport and Metabolism. Pra-gua. 1961.
10. Skou J. C. Biochem. Biophys. Acta, 58, 314, 1962.