

А. С. Оганесян

**К вопросу об участии аденозинтрифосфатазы в проницаемости
клеточных мембран**

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятыном 12/VII 1962)

Исследованиями ряда авторов (¹⁻³ и др.) установлено, что аденозинтрифосфатаза (АТФ-аза) принимает активное участие в трансмембранном переносе натрия и калия в эритроцитах и периферической нервной ткани.

Наши исследования показали, что АТФ-аза почечной ткани является составной частью транспортного механизма глюкозы и натрия в почках. Нами установлено, что инсулин повышает реабсорбцию глюкозы и натрия в почках, а строфантин, наоборот, угнетает обратное всасывание этих веществ и усиливает их выделение с мочой. Имеются указания, что строфантин оказывает ингибирующее действие на активность АТФ-азы эритроцитов (^{1,2}) и периферической нервной ткани (³). Подобное явление мы наблюдали в отношении АТФ-азы почечной ткани (⁴). Имея в виду, что инсулин повышает реабсорбцию глюкозы и натрия и что АТФ-аза является составной частью транспортного механизма этих веществ в канальцах почек, мы задались целью изучить влияние инсулина на АТФ-азную активность почечной ткани, учитывая, что АТФ-аза может играть определенную роль в механизме действия инсулина в отношении транспорта глюкозы и натрия в почках. Одновременно изучалось изменение АТФ-азной активности мышечной ткани, имея в виду, что действие инсулина в отношении транспорта глюкозы особенно выражено в мышечной ткани. В качестве подопытных животных служили белые крысы в возрасте от 4 до 6 месяцев. Инсулин вводился внутривенно из расчета 7,5 ед/кг живого веса за 60—90 минут до их обезглавливания. Активность АТФ-азы определяли в срезах и гомогенатах почек (отдельно в корковой и мозговой частях) и скелетных мышцах (четырёхглавая мышца бедра) по методу Бонтинга и сотрудников (⁵) с некоторыми изменениями описанными ранее (⁴). Инкубацию срезов (100 мг) проводили при 37°C в течение 20 мин. Действие фермента приостанавливалось добавлением трихлоруксусной кислоты (1,5 м—1 мл), с последующим определением неорганического фосфора по Фиске-Суббороу.

Полученные данные приводятся в таблицах.

Как видно из данных табл. 1, средняя величина активности АТФ-азы корковой части почечной ткани в контрольных опытах равняется 0,53 мг/Р. Под действием инсулина наблюдается повышение активности фермента до 0,63 мг/Р, т. е. на 18,8%, в отдельных случаях активность фермента повышается на 25,3—29,4%. Аналогичные явления наблюдаются и в отношении АТФ-азной активности срезов моз-

Таблица 1

Изменение активности АТФ-азы почечной ткани под действием инсулина (мг Р/г ткани/час).

№ пп		Корковая часть			Мозговая часть		
		контрольн. опыт	после инсулина	изменение активности фермента в %	контрольн. опыт	после инсулина	изменение активности фермента в %
I. Срезы							
1	"	0,57	0,67	17,5	0,55	0,67	21,8
2	"	0,57	0,67	17,5	0,55	0,65	18,2
3	"	0,56	0,64	14,3	0,48	0,58	20,4
4	"	0,57	0,68	19,3	0,55	0,66	20,0
5	"	0,49	0,61	25,3	0,48	0,57	18,6
6	"	0,51	0,66	29,4	0,46	0,60	30,4
7	"	0,55	0,56	—	0,54	0,64	18,5
8	"	0,49	0,58	22,5	0,48	0,59	22,5
9	"	0,51	0,61	19,6	0,49	0,61	25,3
10	"	0,55	0,65	18,2	0,51	0,62	21,5
		0,53 ± 0,03	0,63 ± 0,04	18,8	0,51 ± 0,05	0,62 ± 0,05	21,1
		P < 0,01			P < 0,01		
II. Гомогенат							
1	"	0,67	0,78	16,4			
2	"	0,75	0,79	5,5			
3	"	0,67	0,76	13,4			
4	"	0,69	0,76	10,1			
5	"	0,73	0,78	7			
6	"	0,61	0,72	18			
7	"	0,62	0,68	9,7			
		0,67 ± 0,06	0,75 ± 0,04	12			
		P < 0,01					

говой части почек; здесь активность фермента повышается от 0,51 мг/Р до 0,62 мг/Р, т. е. на 21,1%. Следует отметить, что активность АТФ-азы в корковой и мозговой частях почек почти одинакова, что свидетельствует об интенсивности процессов, имеющих активную природу, которые протекают как в корковой, так и в мозговой частях почек. В наших исследованиях было установлено также усиление активности АТФ-азы в гомогенате корковой части, однако по сравнению с активностью мембранной АТФ-азы (срезы) она менее выражена. По-видимому, инсулин оказывает свое действие преимущественно на мембранную АТФ-азу.

В табл. 2 приведены результаты исследований в отношении мышечной ткани. Как показывают эти данные, в контрольных опытах величина активности фермента в срезах (мембранная АТФ-аза) составляет в среднем 0,44 мг/Р, а после инсулинизации животного—0,57 мг/Р, т. е. наблюдается повышение активности АТФ-азы приблизительно на

Таблица 2

Изменение активности АТФ-азы мышечной ткани под действием инсулина (мг Р/г ткани/час).

№		Контрольный опыт	После инсулина	Изменение активности фермента в %
I. Срезы				
1	..	0,50	0,63	26
2	..	0,42	0,55	30,9
3	..	0,43	0,54	25,6
4	..	0,48	0,58	20,8
5	..	0,42	0,52	23,8
6	..	0,40	0,60	50
7	..	0,38	0,51	34,2
8	..	0,40	0,56	40
9	..	0,46	0,57	24
10	..	0,44	0,58	30,9
		0,44 ± 0,04	0,57 ± 0,04 P < 0,01	29,5
II. Гомогенат				
1	..	0,78	0,83	6,4
2	..	0,87	0,97	11,5
3	..	0,84	1,04	23,7
4	..	0,83	0,94	13,2
5	..	0,80	0,89	11,2
6	..	0,70	0,81	15,7
7	..	0,69	0,78	13
	Средний	0,78 ± 0,07	0,88 ± 0,08 P < 0,01	13

30%, а в отдельных случаях на 40—50%. Инсулин повышает также и АТФ-азную активность гомогената мышечной ткани, но значительно меньше, чем это наблюдается в срезах.

Следует отметить, что каждая приведенная величина активности АТФ-азы представляет собой среднюю арифметическую из 3—4 параллельных опытов, расхождения между которыми не превышало 3—4%. Приведенные данные показывают, что под действием инсулина *in vivo* наблюдается повышение активности АТФ-азы—почечной и мышечной тканей у крыс. Причем это повышение в более выраженной форме проявляется в отношении АТФ-азы мышечной ткани. Что касается изменения активности фермента в почках, то оно проявляется равномерно как в отношении корковой, так и мозговой части.

В. К. Стеди (6) в своем обзоре отмечает, что инсулин не оказывает заметного воздействия на активность АТФ-азы и ряда других ферментов. Это, по-видимому, объясняется различием условий опыта и способа применения инсулина.

Наши прежние исследования показали, что инсулин повышает реабсорбцию глюкозы и натрия в почках, а строфантин, наоборот, угнетает реабсорбцию этих веществ и ускоряет их выделение с мочой. С другой стороны, было установлено, что строфантин угнетает активность АТФ-азы (АТФ-азы срезов) почечной и мышечной тканей. Недавно были опубликованы данные А. Клейнцеллера и А. Котика (⁷), которые показывают, что строфантин угнетает транспорт галактозы в срезах почечной ткани, а по мнению ряда авторов, галактоза и глюкоза переходят через клеточный мембранный барьер общим механизмом.

Полученные нами результаты показывают, что инсулин ускоряет реабсорбцию глюкозы и натрия в почках, усиливает перенос глюкозы в мышечную ткань (^{8,9}) и одновременно повышает активность мембранной АТФ-азы в этих тканях; с другой стороны, строфантин, вызывает понижение реабсорбции глюкозы и натрия в почках, ингибирует транспорт галактозы в почечную ткань (⁷) и также угнетает активность АТФ-азы почечной и мышечной тканей. Следовательно, надо полагать, что АТФ-аза принимает активное участие в трансмембранном переносе глюкозы и натрия в почках и в мышечной ткани. Кроме того, АТФ-аза играет важную роль в механизме действия инсулина в отношении транспорта глюкозы и натрия в почках и мышечной ткани.

По данным ряда авторов (^{8,9}), точкой приложения инсулина является клеточная мембрана. Под действием инсулина наблюдается повышение проницаемости мембраны мышечной клетки в отношении глюкозы; при этом количество свободной глюкозы внутри клетки повышается, т. е. глюкоза транспортируется без предварительного фосфорилирования. Наши данные показывают, что инсулин преимущественно оказывает свое влияние на мембранную АТФ-азу, которое особенно выражено в отношении мышечной ткани, а мышечная ткань, как известно, больше всего поглощает глюкозу под действием инсулина. Результаты наших исследований подтверждают мнение ряда авторов о преимущественном влиянии инсулина на мембранные барьеры клеток.

Интересно, что как корковая, так и мозговая часть почек обладают одинаковой активностью АТФ-азы. Известно, что именно в корковой части почек протекают интенсивные процессы реабсорбции и секреции ряда веществ, которые имеют активную природу и протекают с затратой энергии. Исследования последних лет, проведенные на уровне канальцев почек (^{10, 11}), показали, что в мозговой части почек, особенно в области петли Генле и собирательных трубок, имеет место интенсивная реабсорбция натрия, а также секреция аммиака, водородных ионов и ионов калия, которые также имеют активную природу и протекают с затратой энергии. По-видимому, высокую активность АТФ-азы мозговой части почек следует объяснить интенсивностью указанных процессов, протекающих в этой части почек.

Предварительные опыты на собаках *in vivo* показывают, что гипогликемическое действие инсулина проявляется значительно слабее, если животному заранее вводится строфантин, т. е. глюкозид который

ингибирует АТФ-азу клеток. Это показывает, что АТФ-аза является важным звеном в механизме действия инсулина в отношении транспорта глюкозы. Надо полагать, что участие АТФ-азы в трансмембранном переносе глюкозы и натрия в тканях сопровождается с вовлечением в процесс соответствующего субстрата — АТФ. Предварительные опыты показывают, что АТФ способствует поглощению глюкозы мышечной тканью и почками и усиливает гипогликемическое действие инсулина у собак с экспериментальным диабетом.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

Ա. Ս. ՇՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

ԲՆՆԱՅԻՆ ԲԱՊԱՆՐԻ ԲԱՓԱՆԳԵԼԻՈՒՄԻ ԽՆԴՐՈՒՄ ԱՊԵՆՈՎԻՆՈՐԻՖՈՍՓԱՏԱԳԱՅԻ ՄԱՍՆԱԿԳՈՒԹՅԱՆ ԽԱՐԿԻ ԵՈՒՐՋԸ

Փորձերը զրվել են սպիտակ առնետների վրա: Որոշվել է երիկամային (կեղևային և միջուկային մասերի) և մկանային հյուսվածքների կտրվածքների ու հոմոգենատի աղենոգինտորիֆոսֆատադայի ակտիվությունը ինսուլինի ազդեցության տակ: Ինսուլինը սրսկվել է կենդանիներին ներորոգայնային ճանապարհով, փորձն սկսվելուց 1—1½ ժամ առաջ:

Ստացված տվյալները ցույց են տվել, որ ինսուլինի ազդեցության տակ նկատվում է ինչպես երիկամային, նույնպես և մկանային հյուսվածքների աղենոգինտորիֆոսֆատադայի ակտիվության բարձրացում, որն ավելի ցայտուն կերպով արտահայտվում է այդ հյուսվածքների, հատկապես մկանային հյուսվածքի կտրվածքների նկատմամբ:

Երիկամի կեղևային և միջուկային մասերում աղենոգինտորիֆոսֆատադայի ակտիվությունը համարյա միատեսակ է: Նկատի ունենալով այս փաստը, ինչպես և այն, որ աղենոգինտորիֆոսֆատադան ակտիվ մասնակցություն ունի երիկամներում գլյուկոզայի և նատրիումի հետ ներթման պրոցեսներում, ուստի պետք է ենթադրել, որ երիկամների ինչպես կեղևային, նույնպես միջուկային մասերում կատարվում են ինտենսիվ կենսական պրոցեսներ, որոնք ունեն ակտիվ բնույթ և ընթանում են էներգիայի ծախսումով:

Մկանային հյուսվածքի աղենոգինտորիֆոսֆատադայի ակտիվության վրա ինսուլինի ունեցած հատուկ ազդեցությունը ցույց է տալիս, որ այդ ֆերմենտը (հավանորեն համապատասխան սուբստրատի հետ միասին) ունի որոշակի և կարևոր դեր ինչպես գլյուկոզայի փոխադրման պրոցեսում՝ նույնպես և ինսուլինի ազդեցության մեխանիզմում:

Л И Т Е Р А Т У Р А — Ք Ր Ա Կ Ա Ն ՈՒ Փ Յ ՈՒ Ն

- ¹ P. L. Post и К. Д. Албрихт, Membrane Transport and metabolism, Prague, 1961. ² E. T. Дунгам и Й. М. Глинн, J. Physiol., 156, 274, 1961. ³ Й. К. Скоу, Membrane Transport and Metabolism, Prague, 1961. ⁴ А. С. Оганесян, ДАН АрмССР, т. XXXV, № 4 (1962). ⁵ С. Л. Бонтинг, К. А. Симон и Н. М. Гавкинс, Arch. Biochem. Biophys. 95, 416, 1961. ⁶ В. К. Стеди, Physiol. Rev., 34, 52, 1954. ⁷ А. Клейнцеллер и А. Котик, Biochem. Biophys. Acta, 54, 367, 1961. ⁸ Р. Левин и М. С. Голштейн, Rec. Progr. Horm. Res. 11, 343, 1955. ⁹ К. Р. Парк, Й. Борнштейн и Р. Л. Пост, Am. J. Physiol., 182, 12, 1955. ¹⁰ К. В. Готтшалк и М. Милле, Am. J. Physiol., 196, 927, 1959. ¹¹ К. Й. Ульрих, Circulation, 21, 869, 1960.