

УДК 591.1.05

БИОХИМИЯ

Ж. С. Геворкян, А. С. Оганесян, Г. Г. Геворкян,
К. Д. Беджаниян

Влияние АТФ на протеолитическую активность почечной ткани

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятыном 18/VI 1979)

Рядом исследователей показано, что процессы внутриклеточной деградации белков протекают с затратой энергии (^{1,2}). Предполагается, что за счет энергии АТФ белки из цитоплазмы доставляются в лизосомы, где и подвергаются деградации под влиянием мощных лизосомальных протеиназ.

Наши прежние исследования (^{3,4}) показали, что преинкубация срезов почек в атмосфере низкого парциального давления кислорода (воздух) приводит в выраженному снижению активности ферментов, осуществляющих деаминирование некоторых природных аминокислот, при этом содержание АТФ в срезах почек резко снижается, между тем как при преинкубации почечных срезов в условиях высокого парциального давления кислорода (смесь кислорода—95% и СО₂—5%) активность упомянутых ферментов не только не подавляется, но даже несколько повышается. При этом содержание АТФ в срезах почек поддерживается на высоком уровне. Мы предполагали возможность усиления протеолитических процессов в срезах почек, преинкубированных в атмосфере низкого парциального давления кислорода, что приводит к разрушению ферментов, осуществляющих деаминирование L-аминокислот.

Эти данные побудили нас провести ряд исследований по изучению влияния энергетического состояния почечной ткани (корковый слой) на протеолитические процессы, протекающие в ней. С этой целью подопытным животным (белые крысы) предварительно внутрибрюшинно вводили меченый лейцин — С¹⁴ (U) в количестве 50μ Ci (специфическая активность 300 mCi/mM), через 3 часа удаляли почки и в холодных условиях приготавливали срезы, которые инкубировали в Кребс-Рингер-бикарбонатном буфере (по 100 мг) при t = 37°C в течение одного часа, в присутствии и отсутствии трипсина (4γ/мл). Различное энергетическое состояние почечной ткани достигалось инкубированием срезов в атмосфере высокого (кислород—95%, СО₂—5%) и низкого

(воздух) парциального давления кислорода в зависимости от условий опыта. Изучали выделение из состава белков меченого лейцина C^{14} (U) в инкубационную среду, под действием трипсина, в зависимости от энергетического состояния почечной ткани. О степени протеолиза судили по величине выхода лейцина C^{14} в инкубационную среду. Содержание АТФ в срезах почек определяли с использованием люциферин-люциферазы и по UV тесту.

Влияние трипсина и различных условий инкубации на выделение лейцина C^{14} из белков почечных клеток

Условия опыта	Импульс в минуту
Инкубация в атмосфере O_2-CO_2	
Контроль	165010
+ трипсин	170850
Инкубация в атмосфере воздуха	
Контроль	204050
+ трипсин	242070

Как видно из приведенных в таблице данных, при инкубировании срезов почек в атмосфере низкого парциального давления кислорода (контрольный опыт) в инкубационной среде определяется большое количество лейцина C^{14} , в значительной мере превышающее таковое, когда срезы инкубируются в атмосфере высокого парциального давления кислорода. Особенно высокая разница протеолиза наблюдается при сравнении данных опытов с применением трипсина в условиях воздуха и кислорода. Интересно отметить, что при инкубации срезов в атмосфере кислорода действие трипсина на протеолитические процессы (выделение лейцина C^{14} из клеточных белков) незначительное, в то время как этот показатель при инкубации срезов в атмосфере воздуха и в присутствии трипсина значительно выше.

Результаты проведенных опытов показывают, что в условиях низкого парциального давления кислорода протеолитические процессы в почечной ткани более выражены, чем в условиях высокого парциального давления кислорода. Эти данные подтверждают результаты наших прежних исследований, проведенных со срезами почек без применения меченых соединений. Эта разница обусловлена энергетическим состоянием срезов почек, инкубированных в различных условиях. Как показывают данные рис. 1, в ходе инкубации срезов почек в условиях высокого парциального давления кислорода содержание АТФ в них поддерживается на высоком уровне, иногда даже наблюдается некоторое повышение от исходного уровня, между тем как инкубация срезов почек в атмосфере воздуха приводит к резкому снижению содержания АТФ в них.

Из данных рис. 2 видно, что с понижением содержания АТФ в почечной ткани наблюдается линейное повышение содержания меченого лейцина в инкубационной среде, т. е. усиление протеолитических процессов в почечной ткани, и, наоборот, с повышением содержания этого макроэргического соединения наблюдается подавление выделения лейцина C^{14} , т. е. угнетение протеолиза.

Наши прежние исследования (5) показали, что инкубация срезов почек в атмосфере воздуха приводит к значительному повышению со-

держания свободных аминокислот, что также свидетельствует об усилении действия эндогенных протеиназ и эндопептидаз, приводящем к постепенной деградации белков до свободных аминокислот. Подобная картина наблюдается при добавлении к инкубационной среде трипсина.

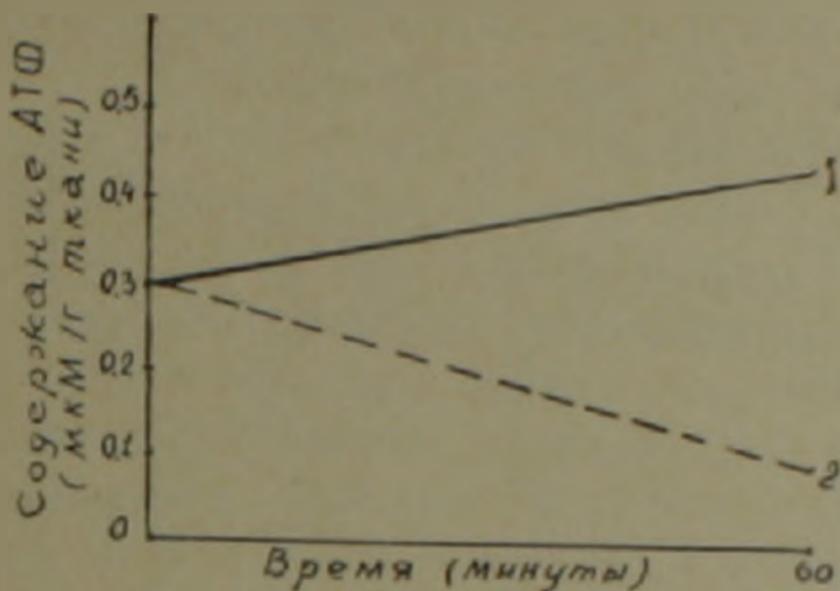


Рис. 1. Влияние различных условий инкубации на содержание АТФ в срезах почек: 1—инкубация в атмосфере O_2+CO_2 ; 2—инкубация в атмосфере воздуха

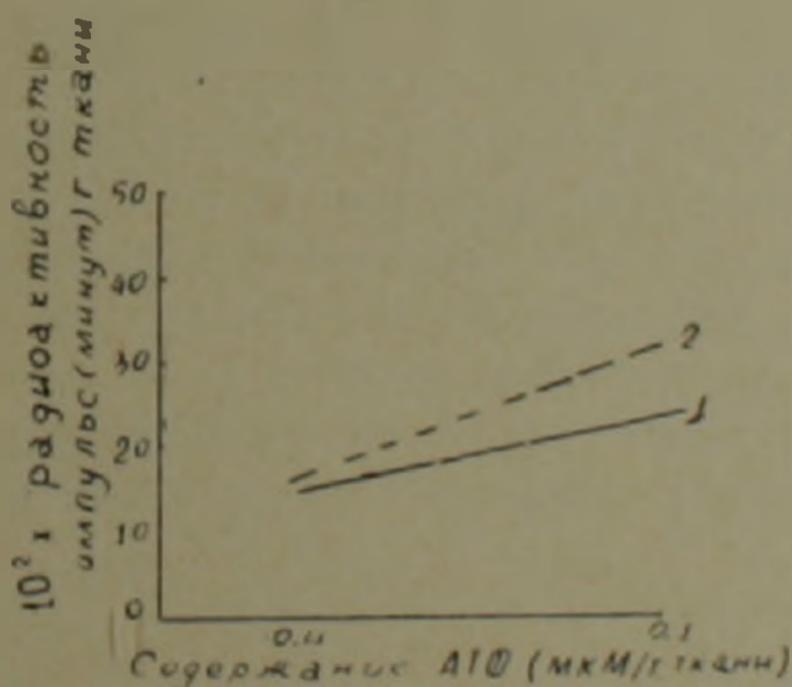


Рис. 2. Влияние изменения содержания АТФ на протеолиз белков почечной ткани (освобождение лейцина C^{14} из белков)

Таким образом, приведенные данные показывают, что существует тесная связь между энергетическим состоянием почечной ткани и интенсивностью протеолитических процессов, протекающих в них. Условия, способствующие поддержанию содержания АТФ на высоком уровне, подавляют процессы протеолиза в почечной ткани, и, наоборот, условия, способствующие снижению содержания АТФ, приводят к усилению протеолитических процессов. Среди всех тканей живого организма почечная обладает наивысшей протеолитической активностью, и без добавления извне протеолитического фермента разница в интенсивности протеолиза в опытах, проведенных в различных экспериментальных

условиях, проявляется довольно хорошо. Однако для получения более четкой картины мы извне добавляли трипсин, высокоактивный протеолитический фермент; выяснилось, что когда содержание АТФ в почечных срезах высокое, эффект такого мощного протеолитического фермента, как трипсин, проявляется в незначительной мере, между тем как при наличии низкого содержания АТФ в срезах почек трипсин проявляет выраженный протеолитический эффект.

По другим нашим данным, при снижении содержания АТФ в почечной ткани наблюдается дефосфорилирование белков (под действием тканевой фосфопротенин-фосфатазы), что приводит к повышению их чувствительности к протеолитическим ферментам. В результате наблюдается значительное изменение функциональной активности этих белков. Наблюдаемое нами резкое снижение активности ферментов, осуществляющих деаминирование некоторых L-аминокислот при инкубировании срезов почек в атмосфере воздуха (при этом имеет место также резкое снижение содержания АТФ в них), мы объясняем именно необратимыми изменениями в структуре молекул этих ферментов после их дефосфорилирования, под действием клеточных протеаз. В фосфорилированном состоянии эти белки-ферменты более устойчивы к действию протеолитических ферментов, что отмечается при высоком содержании АТФ в почечной ткани. По данным ряда авторов (1, 2) деградация белков замедляется при подавлении окислительных процессов в тканях под действием ряда ингибиторов. Это, по-видимому, объясняется различием условий постановки опытов (введение чужеродного белка) и возможным ингибированием также протеолитических ферментов под действием применяемых ингибиторов биохимических реакций. Исходя из этих соображений мы избегали применения различных ингибиторов при изучении этого вопроса.

Полученные результаты дают нам основание полагать, что АТФ возможно применять в медицинской практике как антипротеолитический фактор.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

ժ. Ս. ԿԵՎՈՐԿՅԱՆ, Ա. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Գ. Գ. ԿԵՎՈՐԿՅԱՆ, Կ. Գ. ԲԵՋԱՆՅԱՆ

Աղենոգիտոցիֆոսֆատի ազդեցությունը երիկամի հյուսվածքի պրոտեոլիտիկ ակտիվության վրա

Փորձերը դրվել են սպիտակ առնետների երիկամների կեղևային շերտի կտրվածքների վրա: Ցույց է տրված, որ երիկամային հյուսվածքի ԱՏՖ-ի բանակի նվազեցման դեպքում (ինկուբացիա թթվածնի ցածր պարունակությամբ՝ օդի միջավայրում) զգալիորեն ակտիվանում են պրոտեոլիտիկ պրոցեսները (արագանում է նշված լեյցինի անջատումը երիկամային սպիտակուցներից), այդ պայմաններում տրիպսինի պրոտեոլիտիկ ազդեցությունը բավականին ուժեղ է արտահայտված, ընդհակառակը, երբ երիկամային հյուսվածքում ԱՏՖ-ի

քանակը բարձր է (ինկուբացիա թթվածնով հարուստ միջավայրում) այդ դեպ-
քում նշված լեյցինի անջատումը սպիտակուցներից և տրիպտինի պրոտեոլիտիկ
ազդեցությունն սպառնալից թույլ է արտահայտված:

ЛИТЕРАТУРА—ԴՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

¹ J. Natori, In: Intracellular protein turnover, Eds: Schimke R. T. a. Katunuma N., p. 237, 1975. ² B. Pool, In: Intracellular protein turnover, Eds: Schimke R. T. a. Katunuma N., p. 249, 1975. ³ Ж. С. Геворкян, А. С. Оганесян, ДАН Арм. ССР, т. 65, № 1 (1978). ⁴ А. Лайта, М. Шварц, Г. Сершен, Ж. С. Геворкян, А. С. Оганесян, ДАН Арм. ССР, т. 68, №1 (1979). ⁵ Ж. С. Геворкян, Автореф канд. дис., Ереван, 1969.