

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

Влияние нового гипоталамического полипептида Цитокина на Mg^{2+} – и Ca^{2+} - активируемые АТРазаы тканей крыс

(Представлено 28/II 1999)

Из нейросекреторных гранул гипоталамо-гипофизарной системы крупного рогатого скота впервые была выделена новая группа полипептидов, так называемые пролин-богатые пептиды (ПБП), которые обладают сильно выраженными иммуномодуляторными свойствами [1,2]. Удалось выявить их первичную структуру. Предшествующим белком является нейрофизин-II-гликопротеин. Согласно Галояну нейросекреторные клетки гипоталамуса являются иммунокомпетентными клетками мозга, выполняющими функции Т- и В-лимфоцитов, и в них образуются цитокины для регуляции функции иммунной системы самого мозга и периферической иммунной системы. Из указанных нейросекреторных гранул удалось выделить также интерлейкины (ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6) - фактор некроза опухолей (ФНО- α)[1]. Эти данные открывают новые горизонты развития нейроиммунологии.

Цель настоящего исследования - изучить влияние одного из новых цитокинов, открытых Галояном и сотр. [1]: *Ala-Glu-Ala-Pro-Glu-Pro-Ala-Glu-Pro-Ala-Glu-Pro-Glu-Val-Tyr* на Mg^{2+} - и Ca^{2+} -активируемые АТРазаы различных органов крыс. Ранее было показано, что этот пептид активирует макрофаги, защищает мышей от летальных доз грамотрицательных бактерий и других инфекций [2]. Более того, было установлено, что этот полипептид защищает от нейронального повреждения, вызванного змеиным ядом (*Vipera raddeji* Boettger 1898)[5,6], и этот эффект превосходит эффект дексаметазона [6]. Очевидно, что ПБП может оказывать влияние на энергетический обмен и других органов. Поэтому мы изучали влияние ПБП как на Mg^{2+} -, так и Ca^{2+} -зависимую АТРазау мозга, печени, сердца и скелетной мышцы.

Опыты проводили на митохондриях, выделенных из головного мозга, печени, сердца и скелетных мышц беспородных половозрелых крыс-самцов. Ядерную фракцию из гомогенатов различных тканей осаждали при 600-800 g в течение 10 мин. Митохондриальную фракцию мозга выделяли при 18000, печени - при 9000, а миокарда и мышечной ткани - при 12000 g в течение 15 мин. Среда выделения митохондрий: 0,25 М сахарозы-0,02 М трис-НСI буфера, рН 7,4. Активность Mg^{2+} - и Ca^{2+} -АТРаза в изолированных митохондриях определяли по нарастанию неорганического фосфата в следующей инкубационной среде (2мл): 1,6 мл 0,25 М сахарозы - 0,02 М трис-НСI-буфера, 0,2 мл суспензии митохондрий (соответствующей 2-3 мг белка), 4 мг АТР, растворенного в 0,2 мл 0,25 М сахарозы (рН 7,4), и 0,5 мМ Ca^{2+} или Mg^{2+} . Конечная концентрация добавленного ПБП - 10^{-9} М. Время инкубации смеси 30 мин. Синтез указанного пептида был осуществлен в лаборатории Фелтера (Германия)[3]. Неорганический фосфат определяли по Лоури и сотр.[4] и пересчитывали на 1 мг белка. Определение белка проводили по Лоури и сотр. [5]. Полученные результаты обработаны статистически. Достоверность различий между средними величинами определяли по t-критерию Стьюдента [6].

Таблица 1

**Изменение активности Mg^{2+} -АТРазаы (ΔP в мкатамах/мг белка/30 мин)
митохондрий тканей крыс при добавлении ПБП (в количестве 10^{-9} М),
 $M \pm m$, n=6-7**

Интактные митохондрии;			Охлажденные митохондрии		
Mg ²⁺	Mg ²⁺ +ПБП		Mg ²⁺	Mg ²⁺ +ПБП	
Мозг					
6.04 ± 0.05	7.84 ±0.15	2938%	6.08±0.02	6.87±0.13	12.9%
	p <0.001			p < 0.001	
Печень					
3.67±0.02	5.15±0.24	40.3%	5.78±0.13	6.22±0.25	7.6%
	p < 0.001			p < 0.001	
Сердце					
6.43±0.20	6.37±.0.11		4.89±0.06	5.61±0.10	14.7%
				p < 0.001	
Мышцы					
3.91±0.80	3.32±0.72		4.57±0.12	5.08±0.60	11.1%
				p < 0.400	

В табл.1 показан эффект влияния ПБП(10^{-9}) на Mg^{2+} -АТФазу митохондрий мозга, печени, сердца и мышцы. Как видно из таблицы, статистически достоверно увеличивается активность Mg^{2+} -АТФазы intactных митохондрий мозга и печени (на 29,8 и 40,3% соответственно). ПБП оказывает также активирующее влияние на Mg^{2+} -АТФазу охлажденных митохондрий мозга и печени - 12,9 и 7,6% соответственно. Этот эффект намного больше выражен в митохондриях мозга, чем печени.

Опыты показали, что ПБП на активность intactных митохондрий Mg^{2+} -АТФазы сердца и мышцы почти не действуют, в то время как достоверно повышают активность фермента в охлажденных митохондриях сердца (14,7%). При этом наблюдается некоторая тенденция повышения каталитической активности фермента в охлажденных митохондриях сердца (14,7%). При этом наблюдается некоторая тенденция повышения каталитической активности фермента в охлажденных митохондриях мышцы (11,1%, $p > 0,400$).

Значительный интерес представляло изучение действия ПБП на активность Ca^{2+} -АТФазы intactных и охлажденных митохондрий мозга, печени, сердца и мышц.

Как видно из табл.2, активность фермента несколько подавляется под влиянием ПБП в мозгу (5,6%), а также в intactных митохондриях сердца и

Таблица 2
Изменение активности Ca^{2+} -АТФазы (ΔP в мкатомах/мг белка/30 мин)
митохондрий тканей крыс при добавлении ПБП (в количестве 10^{-9} М),
 $M \pm m$, $n=6-7$

Интактные митохондрии			Охлажденные митохондрии		
Ca ²⁺	Ca ²⁺ +ПБП		Ca ²⁺	Ca ²⁺ +ПБП	
Мозг					
6.35±0.12	5.99±0.08	−5.60%	6.94±0.04	7.69±0.12	10.8%
Печень					
6.05±0.08	7.51±0.09	24.1%	6.34±0.11	8.02±0.03	26.5%

Сердце				
5.37±0.33	479±0.08	4.05±0.56	3.88±0.61	-5.0%
Мышцы				
3.43±0.06	3.43±0.05	3.27±0.24	3.34±0.08	$p < 0.500$

мышц, в то время как в печени наблюдается достоверное повышение активности как в интактных митохондриях, так и охлажденных на 24,1 и 26,5% соответственно. В других органах (мозг, сердце, мышцы) активность фермента ощутимо не меняется. Эти данные показывают, что митохондрии мозга наиболее чувствительны к воздействию ПБП как ж норме, так и при стрессе митохондрий (охлаждение).

Под влиянием ПБП увеличивается активность Ca^{2+} -АТФазы только митохондрий печени, как интактных, так и охлажденных. Ca^{2+} -АТФаза митохондрий других органов (сердце, мозг, мышцы) на ПБП почти не реагирует. ПБП является активатором Ca^{2+} -АТФазы митохондрий печени.

Таким образом, данные новых исследований свидетельствуют об избирательности влияния ПБП на Mg^{2+} - и Ca^{2+} -зависимые АТФазы митохондрий мозга, печени, сердца и скелетных мышц.

Институт биохимии им. Г. Х. Бунятына НАН РА

Литература

1. Galoyan A.A.. Biochemistry of Novel Cardioactive Hormones and Immunomodulators of the Functionl System Neurosecretory Hypothalamus - Endocrine Heart. Nauka publishers. Moscow, 1997. 240 P.
2. Априкян В.С., Галоян А.А. - ДНАН Армении 1994. Т. 99. № 4. С. 367-371.
3. Voelter W., Kapurniotu A., Mihelic M. et al. NeurochemRes. 1995. V.20. №1. P. 53-59.
4. Lowry O.H., Lopez J.A. - Biol.Chem. 1946. V. 162. P. 421.
5. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. et al. J. Biol.Chem. 1951.V.193. P. 265-275.
6. Бессмертный Б.С. Математическая статистика в клинической профилактической и экспериментальной медицине. М., 1967.

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

**Հիպոթալամուսի ցիտոկին նոր բազմապեպտիդի ազդեցությունը
առնետի հյուսվածքների Mg^{2+} և Ca^{2+} ակտիվացող USP-ազների վրա**

Հետազոտվել է եզան հիպոթալամաճիպոֆիզար համակարգի նեյրոսեկրետոր գրանուլներից պրոլինով հարուստ պեպտիդի ազդեցությունը առնետի ուղեղից, լյարդից, սրտամկանից և կմաղքային մկաններից անջատված միտոքոնդրիումների Mg^{2+} և Ca^{2+} ակտիվացող USP-ազների վրա: Ստացված արդյունքները ցույց են տվել, որ նշված պեպտիդի ազդեցությունը տարբեր հյուսվածքներից անջատված միտոքոնդրիումներում հետազոտված ֆերմենտների կատալիտիկ ակտիվության վրա միանման չէ և ենթարկվում է որոշակի փոփոխությունների: Այդ բազմապեպտիդի ներկայությամբ հատկապես ակտիվանում է ուղեղի և լյարդի միտոքոնդրիումների ֆերմենտը: