УДК 577.15

А. Е. Арутюнян, Л. В. Саркисян, С. С. Алексанян, академик А. А. Галоян

Изменение активности щелочной и кислой фосфатаз под влиянием пролинбогатых полипептидов

(Представлено 24/XII 2001)

Из нейросекреторных гранул нейрогипофиза А. А. Галояном и сотр. в индивидуальном виде был выделен ряд новых полипептидов и расшифрована их первичная структура [1]. Эти соединения оказались С-конечными фрагментами предшественников нейрофизина-II, которые образуются внутри нейросекреторных гранул частичным протеолизом под влиянием протеолитических ферментов по ходу аксонального транспорта из гипоталамуса в нейрогипофиз и богаты пролином [2]. Пролинбогатые полипептиды (ПБП) активируют утилизацию глюкозы, превращение углеводов гликолитическим путем, а также биосинтез фосфолипидов и т.п. [3,4]. ПБП принимает активное участие в регуляции иммунной системы, и в частности иммунокомпетентных клеток организма.

В настоящем исследовании мы задались целью изучить активность щелочной и кислой фосфатаз в различных органах белых крыс под влиянием ПБП *in vitro*, учитывая исключительную важность процессов фосфорилирования и дефосфорилирования белков цитоплазмы иммунокомпетентных клеток.

Опыты проводили на почках, печени, сердце и мозге белых крыс-самцов линии Вистар массой 150-180 г. Животных декапитировали, на холоду быстро извлекали исследуемые органы, промывали охлажденным физиологическим раствором, взвешивали определенное количество ткани и на холоду гомогенизировали в дистиллированной воде микроизмельчителем типа Уоринга.

Активность щелочной и кислой фосфатаз в гомогенатах определяли по методу Боданского [5]. В качестве субстрата брали β -глицерофосфат Na в медиоловом буфере, pH 9.6 для щелочной фосфатазы и 4.6 - для кислой. Неорганический фосфор определяли по методу Лоури и Лопесса [6]. Разведение гомогената производили из расчета 1 г свежей ткани в 10 мл дистиллированной воды для печени, сердца и мозга и 20 мл - для почек. Реакционная смесь состояла из 1 мл гомогената, 5 мл субстрата буфер, 0.25 мл (40 γ) исследуемого вещества. После одночасовой инкубации при 37⁰C в пробы добавляли по 2 мл 40%-ной трихлоруксусной кислоты и в безбелковом фильтрате определяли неорганический фосфор, т.е. из фильтрата брали по 2 мл гомогената, добавляли 2 мл 2.5%-ного раствора молибдата аммония на серной кислоте, 1 мл 0.5%-ной аскорбиновой кислоты и доводили водой до 10 мл. После 5-минутной инкубации немедленно определяли активность фермента. Осаждение белков, фильтрацию и определение неорганического фосфора производили в холодных условиях. Пробы колориметрировали на ФЭК-М фильтром красным, кювет 0.5 см (длина волны 630 нм).

Активность фосфатазы выражали в мг неорганического фосфора, отщепившегося от β -глицерофосфата Na в течение одного часа инкубации при 37⁰C на 1 г сырой ткани.

Результаты, полученные при определении активности щелочной и кислой фосфатаз *in*

in vitro в почках, печени, сердце и мозге под влиянием препарата ПБП, представлены в таблице

Изменение активности кислой (КФ) и щелочной (ЩФ) фосфатаз под влиянием препарата ПБП в почках, печени, сердце и мозге белых крыс, мг Р/г сырой ткани

Орган	Норма	Препарат ПБП, 10^{-9} М	Разница, %
Почки			
КФ	49.75±5.27	62.75±10.5 P < 0.1	26
ЩФ	50.25±7.0	95.6±6.9 P < 0.01	90
Печень			
КФ	32.12±2	44.15±4.9 P < 0.05	37
ЩФ	13.0±2.43	20.0±3.9 P < 0.2	53
Сердце			
КФ	15.25±5.46	19.25±4.48 P < 0.5	26
ЩФ	22.95±2.4	27.7±4.9 P < 0.5	20
Мозг			
КФ	22.0±6.8	24.0±5.9 P < 0.05	9
ЩФ	37.5±6.9	26.5±4.9 P < 0.2	-30

Степень активации ПБП в исследуемых тканях оказалась различной. Активность щелочной фосфатазы резко повышается в почечной ткани (90%), несколько меньше (53.8%) - в печеночной. Сердечная ткань активируется только лишь на 20.7%. Однако в мозговой ткани щелочная фосфатаза ингибируется на 30%

Судя по полученным данным, ПБП понижает активность щелочной фосфатазы мозговой ткани белых крыс, несмотря на то обстоятельство, что последняя менее подвержена изменениям под воздействием различных реагентов, в том числе и препарата фрагмента β -цепи Hb-a и в кислой среде.

Институт биохимии им. Г. Х. Бунятына НАН РА

Литература

1. Galoyan A. A. Biochemistry of Novel cardioactive hormones and immunomodulators of the functional system neurosecretory hypothalamus-endocrine heart. Moscow. Nauka. 1997.
2. Galoyan A. A. -Signal molecules neurochemical Research. 2000. V. 25. N.9/10. P. 1343-1355.
3. Kevorkian G. A., Kanayan A. S., Hayrapetyan R. L., Guevorkian A. G., Marukhyan G. L., Avanesyan S. A., Manukyan L. A., Voskanian L. H., Galoyan A. A. In: "Biochemical and molecular-biological aspects of the brain Immune System" & Sept. 15-19. 2001. Yerevan-Tsakhadzor. P. 86-94.
4. Ghazaryan P. A., Ghazaryan A. P., Galoyan A. A. In: "Biochemical and molecular-biological aspects of the brain immune system". Sept. 15-19. 2001. Yerevan-Tsakhadzor. P. 115-126.

**Ա. Ե. Հարությունյան, Լ. Վ. Սարգսյան, Ս. Ս. Ալեքսանյան,
ակադեմիկոս Ա. Ա. Գալոյան**

**Հիմնային և թթվային ֆոսֆատազների ակտիվության փոփոխությունը
պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդների ազդեցության ներքո**

Հետազոտությունների արդյունքները ցույց են տալիս, որ պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդի (ՊՀՊ) ազդեցության ներքո (*in vitro*) սպիտակ առնետների օրգաններում հիմնային և թթվային ֆոսֆատազների ակտիվությունը ենթարկվում է նշանակալից փոփոխության: Երիկամներում, լյարդում և սրտամկանում նկատվում է նշված ֆերմենտների ակտիվության բարձրացում 20-50%: Երիկամների հիմնային ֆոսֆատազայի ակտիվությունը հասնում է 90%, մինչդեռ ուղեղի նույն ֆերմենտի ակտիվությունը ընկճվում է 30%:

Ստացված տվյալները վկայում են, որ ուղեղի պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդը մասնակցում է տարբեր օրգանների փոխանակության պրոցեսներում: