

БИОХИМИЯ

УДК 577.15

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

Изменение активности щелочной и кислой фосфатаз под влиянием
фрагмента тимозин β_4 (11-19) в разных органах белых крыс

(Представлено 24/XII 2001)

Выделение из гипоталамуса крупного рогатого скота ряда активаторов и ингибиторов Ca^{2+} -кальмодулинзависимой фосфодиэстеразы циклической аденозин-монофосфорной кислоты без участия ионов кальция и кальмодулина позволило полностью раскрыть первичную структуру этого важного белка - пептида тимозин β_4 (T_{β_4}) (1-39)[1].

Установлено, что T_{β_4} с 39 аминокислотными остатками, играющими важную роль не только в регуляции иммунной системы, но и в функциях мозга, оказывает активирующее действие на Ca^{2+} -кальмодулинзависимую фосфодиэстеразу циклического аденозинмонофосфата в нано- и пикомолевых концентрациях в условиях *in vitro* и является мощным активатором Ca^{2+} -кальмодулинзависимых ферментов без участия ионов кальция и кальмодулина [2]. T_{β_4} (1-39) мозга является первичным активатором указанных ферментов, когда концентрация Ca^{2+} недостаточна для насыщения кальмодулина ($10^{-9} - 10^{-12}$) [3].

Учитывая исключительную важность процессов фосфорилирования и дефосфорилирования ряда функционально важных ферментов и белков в физиологических процессах организма, мы поставили задачу изучить влияние фрагмента (11-19), который активирует кислую и щелочную фосфатазы различных органов белых крыс *in vitro*.

Ранее [3] было показано, что фрагменты T_{β_4} (11-19), в которых содержится 5 лизиновых остатков, воспроизводят активирующее влияние T_{β_4} (1-39) на цАМФ фосфодиэстеразу мозга и других органов. Мы задались целью изучить влияние именно этого фрагмента на активность щелочной и кислой фосфатаз.

Экспериментальных животных (белые беспородные крысы - самцы массой 150-180г) содержали в обычном рационе в вивариуме. Материалом для опытов служили: сердце, почки, печень и мозг белых крыс. 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.

Изменение активности кислой (КФ) и щелочной (ЩФ) фосфатаз под влиянием фрагмента T_{β_4} (11-19) в мг Р/г сырой ткани различных органов белых крыс

	Норма	Фрагмент T_{β_4} (11-19), 10^{-9} М	Разность, %
Почки			
КФ	49,75±5,27	56,25±8,36 P<0,05	13
ЩФ	50,25±7,0	74,25±4,3 P<0,02	47
Печень			
КФ	32,12±2,0	39,9±3,3 P<0,05	24
ЩФ	13,0±2,43	24,75±4 P<0,05	90
Сердце			
КФ	15,25±5,46	18,0±4,2 P<0,05	18
ЩФ	22,95±2,4	28,125±6,5 P<0,05	22
Мозг			
КФ	22,0±6,8	19,5±6,1 P<0,2	-11,4
ЩФ	37,5±6,9	31,0±5,1 P<0,05	-17,4

Активность щелочной и кислой фосфатаз в гомогенатах определяли по методу Боданского [4]. В качестве субстрата брали β -глицерофосфат *Na* в медиановом буфере *pH* 9.6 для щелочной фосфатазы и 4.6 - для кислой. Неорганический фосфор определяли по методу Лоури и Лопеса [5]. Разведение гомогената производили из расчета 1г 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 буфера, 0.25 мл (40 γ) исследуемого вещества. После одночасовой инкубации при 37°C в пробы добавляли по 2 мл 40%-ной трихлоруксусной кислоты и в безбелковом фильтрате определяли неорганический фосфор, т.е. из фильтра 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 600-650 нм).

Активность фосфатазы выражали в мг неорганического фосфора, отщепившегося от β -глицерофосфата *Na* в течение одного часа инкубации при 37°C на 1г сырой ткани.

Результаты опытов по определению активности кислой и щелочной фосфатаз исследуемых органов в норме и под влиянием фрагмента T_{β_4} (11-19) приведены в таблице.

Полученные нами данные показали, что в норме достаточно высокая активность кислой и щелочной фосфатаз зафиксирована в почках и печени (49.7, 50.2 мг соответственно), несколько ниже активность щелочной фосфатазы в мозгу (37.5 мг) и кислой - в печени (32.12 мг). В остальных определениях активность обоих ферментов варьирует от 22 до 13 мг.

Таким образом, фрагмент T_{β_4} (11-19) активирует как кислую, так и щелочную фосфатазы в тканях почек, печени и сердца белых крыс. Активность щелочной фосфатазы наиболее высока

в печеночной ткани (90%), тогда как в почках увеличивается на 47%. Активность щелочной и кислой фосфатаз сердца, кислой фосфатазы почек и печени увеличивается на 13-24%. T_{β_4} (11-19) достоверно подавляет активность фосфатаз мозга, как кислую, так и щелочную, в пределах 11-17%.

Институт биохимии им. Г.Х.Бунятына НАН РА

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

**Հիմնային և թթվային ֆոսֆատազների ակտիվության փոփոխությունը
սպիտակ առնետների օրգաններում թիմոզին β_4 (11 - 19) հատվածի ներքո**

Ստացված տվյալների ուսումնասիրությունը ցույց է տալիս, որ թիմոզին β_4 (11 - 19) ֆրագմենտի ազդեցության ներքո (in vitro) տարբեր օրգաններում տեղի է ունենում թթվային և հիմնային ֆոսֆատազների ակտիվության նշանակալից փոփոխություն: Լյարդում, երիկամներում և սրտում նկատվում է ֆերմենտների ակտիվության զգալի ավելացում, հատկապես երիկամների հիմնային ֆոսֆատազան (90%): Ուղեղի ֆերմենտների համար թիմոզին β_4 (11 - 19) հատվածը հանդես է գալիս որպես ինհիբիտոր:

Ստացված տվյալները վկայում են, որ ուղեղից արտազատված սպիտակուցը ակտիվորեն մասնակցում է տարբեր օրգանների ֆոսֆորային փոխանակության գործողություններում:

Литература

1. Galoyan A.A., Gurvits B.Ya., Shuvalova L.A., Davis M.Y., Shively J.E., Lee T.D. - Neurochem. Res. 1992. V.17. N8. P.713-777.
2. Galoyan A.A., Gurvits B.Ya., Sharova N.P. - Neurochem. Res. 1989. V.14. N12. P.1213-1221.
3. Galoyan A.A. Biochemistry of Novel cardioactive Normones and immunomodulators of the functional sistem Neurosecretory Hypothalamus-Endocrine Heart. M. Nauka. 1997.
4. Bodansky A. - J.Biol. Chem. 1933. V. 101. P. 93.
5. Lowry O.N., Lopez J.A. - J.Biol. Chem. 1946. V. 162. N 3. P. 421