

УДК 577.15.04+577.3+591.39

Л. А. Симонян, А. А. Симонян, А. С. Маргарян, Р. Б. Бадалян

**Сдвиги активности АТФаз в митохондриях мозга и печени белых крыс в  
возрастном аспекте под влиянием обогащенного пролином полипептида  
гипоталамуса**

(Представлено академиком А.А.Галояном 3/VI 2004)

Обогащенный пролином полипептид (ПБП), выделенный А.Галояном из нейросекреторных гранул гипоталамо-гипофизарной системы крупного рогатого скота [1], играет регулируемую роль в энергетическом метаболизме митохондрий [2,3]. В опытах *in vitro* под влиянием ПБП значительно стимулируется каталитическая активность  $Mg^{2+}$ -зависимой АТФазы в интактных митохондриях мозга и печени белых крыс. Нами изучена роль этого полипептида в энергетическом обмене при некоторых патологических состояниях организма, в частности, при экспериментальном миокардите у кошек [2]. Целью настоящей работы явилось исследование воздействия ПБП на активность  $Mg^{2+}$ -,  $Ca^{2+}$ -,  $HCO_3^-$ -зависимых АТФаз в интактных митохондриях мозга и печени у различных возрастных групп белых крыс. В опытах использовали 1- и 6-месячных белых беспородных крыс (30 животных). Ядерную фракцию из гомогенатов мозга и печени осаждали при 800 g в течение 10 мин. Митохондриальную фракцию мозга выделяли при 18000 g, печени - при 9000 g в течение 15 мин. Среда выделения митохондрий: 0.25 М сахарозы - 0.02 М трис-НСl буфера, рН 7.4. Активность АТФаз в изолированных митохондриях определяли по нарастанию неорганического фосфата в инкубационной среде следующего состава (2 мл): 1.6 мл 0.25 М сахарозы - 0.02 М трис НСl буфера, 0.2 мл суспензии митохондрий (содержащей 2-3 мг белка), 2 мМ АТФ, растворенного в 0.2 М сахарозы (рН 7.4) и 1 мМ  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  или 60 мМ  $HCO_3^-$ . Конечная концентрация добавленного ПБП -  $10^{-9}$  М. Время инкубации смеси - 30 мин. Синтез ПБП был осуществлен в лаборатории Фетлера (Германия) [4].

Таблица 1

Сдвиги активности  $Mg^{2+}$ -АТФазы ( $\Delta P$  в мкатамах/мг белка/30мин)  
митохондрий мозга и печени крыс в возрастном аспекте при добавлении ПБП  
( $M \pm S.M.E.$ ,  $n = 6$ )

| Митохондрии | 1-месячные крысы |                |                       | 6-месячные крысы |                |                       |
|-------------|------------------|----------------|-----------------------|------------------|----------------|-----------------------|
|             | $Mg^{2+}$        | $Mg^{2+}$ +ПБП | Прирост активности, % | $Mg^{2+}$        | $Mg^{2+}$ +ПБП | Прирост активности, % |
| Мозг        | 10.47±0.18       | 11.79±0.33     | 12.6                  | 6.04±0.05        | 7.84±0.15      | 29.8                  |
|             |                  | $p < 0.001$    |                       |                  | $p < 0.001$    |                       |
| Печень      | 8.18±0.06        | 9.71±0.06      | 18.7                  | 3.67±0.02        | 5.15±0.24      | 40.3                  |
|             |                  | $p < 0.001$    |                       |                  | $p < 0.001$    |                       |

Таблица 2

Сдвиги активности  $Ca^{2+}$ -зависимой АТФазы ( $\Delta P$  в мкатамах/мг белка/30мин)  
митохондрий мозга и печени крыс в возрастном аспекте при добавлении ПБП  
( $M \pm S.M.E.$ ,  $n = 6$ )

| Митохондрии | 1-месячные крысы |                |                       | 6-месячные крысы |                |                       |
|-------------|------------------|----------------|-----------------------|------------------|----------------|-----------------------|
|             | $Ca^{2+}$        | $Ca^{2+}$ +ПБП | Прирост активности, % | $Ca^{2+}$        | $Ca^{2+}$ +ПБП | Прирост активности, % |
| Мозг        | 10.46±0.39       | 11.77±0.50     | 12.5                  | 6.35±0.12        | 5.99±0.08      | угнет.6               |
|             |                  | $p < 0.050$    |                       |                  |                |                       |
| Печень      | 7.85±0.42        | 9.08±0.52      | 15.6                  | 6.05±0.08        | 7.51±0.09      | 24.0                  |
|             |                  | $p < 0.050$    |                       |                  | $p < 0.001$    |                       |

Таблица 3

Сдвиги в активности  $\text{HCO}_3^-$ -зависимой АТРазаы ( $\Delta P$  в мкатамах/мг белка/30мин)  
митохондрий мозга и печени крыс в возрастном аспекте при добавлении ПБП  
( $M \pm S.M.E.$ ,  $n = 6$ )

| Митохондрии | 1-месячные крысы |                           |                       | 6-месячные крысы |                          |                       |
|-------------|------------------|---------------------------|-----------------------|------------------|--------------------------|-----------------------|
|             | $\text{HCO}_3^-$ | $\text{HCO}_3^-$ +ПБП     | Прирост активности, % | $\text{HCO}_3^-$ | $\text{HCO}_3^-$ +ПБП    | Прирост активности, % |
| Мозг        | 9.15±0.72        | 10.16±0.75<br>$p < 0.500$ | 11.0                  | 6.13±0.12        | 7.90±0.26<br>$p < 0.001$ | 28.8                  |
| Печень      | 9.58±0.22        | 10.9±0.09<br>$p < 0.005$  | 13.7                  | 5.75±0.70        | 7.14±0.33<br>$p < 0.001$ | 24.1                  |

Неорганический фосфат определяли по Лоури и соавт. [5] и пересчитывали на 1 мг белка. Определение белка проводили по Лоури и соавт. [5]. Полученные данные обработаны статистически. Достоверность различий между средними величинами определяли по t-критерию Стьюдента [7].

Результаты исследований, приведенные в табл. 1, показывают, что каталитическая активность  $\text{Mg}^{2+}$ -зависимой АТРазаы в изолированных митохондриях мозга и печени 1-месячных крыс намного выше, чем у 6-месячных. При добавлении ПБП наблюдается достоверное повышение активности фермента. При этом по сравнению с контролем ( $\text{Mg}^{2+}$ ) в митохондриях мозга 1-месячных крыс при добавлении ПБП активность фермента возрастает на 12,6, а в печени - на 18,7 %. Важно отметить, что у 6-месячных крыс стимулирование активности фермента ПБП почти в два раза больше, чем у 1-месячных животных.

В табл. 2 приведены данные об изменении активности  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой АТРазаы под влиянием ПБП. Наблюдается повышенная активность фермента в митохондриях мозга 1-месячных крыс по сравнению с 6-месячными. При добавлении ПБП у 1-месячных крыс активность активности  $\text{Ca}^{2+}$ -АТРазаы повышается на 12,5 % по сравнению с пробами, содержащими только Са. Однако у 6-месячных животных под влиянием этого пептида наблюдается некоторое (6 %-ное) подавление активности фермента.

В отличие от митохондрий мозга в митохондриях печени ПБП достоверно активирует  $\text{Ca}^{2+}$ -АТРазау, при этом намного больше у 6-месячных крыс (24 %), чем у 1-месячных (15,6 %).

Интересные результаты получены также в отношении регуляторной роли ПБП в активности  $\text{HCO}_3^-$ -зависимой АТРазаы (табл. 3). При добавлении ПБП достоверно повышается активность  $\text{HCO}_3^-$ -АТРазаы как в митохондриях мозга, так и печени 1-месячных крыс. У 6-месячных животных наблюдается более интенсивное стимулирование активности фермента (28,8 и 24,1 % в митохондриях мозга и печени соответственно).

Сопоставляя полученные данные, можно сделать следующее заключение. Каталитическая

активность  $Mg^{2+}$ -,  $Ca^{2+}$ -,  $HCO_3^-$ -зависимых АТРаЗ в изолированных интактных митохондриях мозга и печени 1-месячных крыс намного выше, чем у 6-месячных. ПБП, полученный из нейросекреторных гранул гипоталамо-гипофизарной системы, активирует катализ изученных ферментов, в особенности  $Mg^{2+}$ -зависимой АТРаЗы как в мозге, так и в печени. Наблюдается угнетение  $Ca^{2+}$ -активируемой АТРаЗы только в мозге 6-месячных крыс. В остальных случаях активирующее влияние ПБП на разные АТРаЗы больше у 6-месячных крыс. Исходя из этих данных можно прийти к предположению о регулирующей роли ПБП в энергетическом метаболизме животных в возрастном аспекте.

Авторы выражают благодарность академику А.А. Галояну за любезно предоставленный препарат ПБП и участие в обсуждении полученных результатов.

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. Nauca. 1997. 240 p.
2. *Симонян А.А., Бадалян Р.Б., Симонян Л.А., Степанян Р.А., Галоян А.А.* - Нейрохимия. Т.19. N.2. С. 143-145.
3. *Симонян А.А., Бадалян Р.Б., Симонян Л.А., Степанян Р.А.* - ДНАН РА. 2003. Т.103. N.2. С. 156-159.
4. *Lowry O.H., Lopez J.A.* - Biol. Chem. 1946. V. 162. P. 421.
5. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.* - J. Biol. Chem. 1951. V. 193. P. 265-275.
6. *Бессмертный Б.С.* Математическая статистика в клинической, профилактической и экспериментальной медицине. М. Медицина. 1967. 303 с.

Լ.Ա. Միմոնյան, Ա.Ա. Միմոնյան, Ա.Ս. Մարգարյան, Ռ.Բ. Բադալյան

**ԱՏՖազների ակտիվության տեղաշարժերը սպիտակ առնետների ուղեղի և  
յարդի միտոքոնդրիումներում՝ հասակային առումով հիպոթալամումսի՝  
պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդի ազդեցությամբ**

Ուսումնասիրվել է պրոլինով հարուստ պոլիպեպտիդի (ՊՀՊ) ազդեցությունը  $Mg^{2+}$ -,  $Ca^{2+}$ - և  $HCO_3^-$ -կախյալ ԱՏՖազների ակտիվության վրա՝ 1- և 6-ամսական առնետների ուղեղից և յարդից անջատված միտոքոնդրիումներում: Ցույց է տրվել, որ 1-ամսական առնետների նշված հյուսվածքներից անջատված միտոքոնդրիումներն օժտված են հետազոտված ԱՏՖազների համեմատաբար բարձր ակտիվությամբ: ՊՀՊ-ի ներգործությամբ դիտվել է տարբեր ԱՏՖազների կատալիտիկ ակտիվության զգալի աճ ինչպես ուղեղից, այնպես էլ յարդից անջատված միտոքոնդրիումներում: Ընդ որում, այդ խթանումը 1-ամսականների համեմատությամբ ավելի ինտենսիվ է 6-ամսական կենդանիների միտոքոնդրիումներում: Կարելի է եզրակացնել, որ ՊՀՊ-ի ազդեցությունը ԱՏՖազների կատալիտիկ ակտիվության վրա կատարվում է ընտրողաբար և ունի որոշակի հասակային ուղղվածություն:

**L. A. Simonyan, A. A. Simonyan, A. S. Margaryan, R. B. Badalyan**

**Age-related Changes of Various ATPase Activities in White Rat Brain and Liver  
Mitochondria under the Effect of Hypothalamic Proline Rich Polypeptide**

The effect of PRP on the  $Mg^{2+}$ -,  $Ca^{2+}$ - and  $HCO_3^-$  - dependent ATPase activities in the mitochondria isolated from 1- and 6-month old rat brain and liver was studied. It was shown that mitochondria isolated from the mentioned tissues of 1-month old rats possessed relatively high ATPase activity in compare with that of 6-month old ones. A significant elevation of various ATPase catalytic activities was observed in the mitochondria isolated from the brain as well as from the liver. This elevation was more intensive in the mitochondria of 6-month old animals in compare with that of 1-month old ones. It may be concluded that PRP developed a selective effect on the ATPase catalytic activity expressing a definite age dependence.