

И Г АСЛАНЯН

АДАПТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ТРИПТОФАН-ПИРРОЛАЗЫ У РАЗНЫХ ЖИВОТНЫХ

В организме животных обмен триптофана идет в нескольких направлениях. Однако наиболее изученным до последнего времени остается процесс превращения триптофана в кинуренин.

Как показали Нокс и Мелер, первые этапы этого процесса катализируются ферментом триптофан-пирролазой. Введение триптофана с пищей приводит к резкому повышению активности триптофан-пирролазы, что относится к адаптивным приспособительным реакциям [6]. Как показал Нокс, повышение активности фермента можно наблюдать как при введении триптофана, так и под влиянием ряда других агентов, в частности гидрокортизона. Это положение нашло свое подтверждение в работах других авторов [1, 3, 4]. Таким образом, было показано, что повышение активности триптофан-пирролазы происходит двумя путями: 1—активирование субстратом, 2—активирование, связанное с увеличением секреции гормонов коры надпочечников. Фейгельсон и Грингард выдвинули теорию, позволяющую представить механизм повышения активности триптофан-пирролазы при введении триптофана и гидрокортизона [4]. Однако в биологических превращениях триптофана многое остается еще неясным.

Учитывая, что триптофан-пирролаза является благоприятной моделью для исследования приспособительных изменений обмена веществ у животных, мы изучили изменение активности этого фермента в норме и при субстратной и гормональной индукции в гомогенатах печени и мозга животных, стоящих на разных ступенях эволюционного развития. Последнее представляет интерес, поскольку на низших животных (из доступной нам литературы) подобные исследования не производились. Различные виды животных, а также разные ткани одного и того же животного отличаются по многим признакам и вряд ли можно сомневаться, что многие из этих различий так или иначе связаны с ферментами.

Методика. Опыты ставили на гомогенатах печени и мозга белых крыс, кур породы «белый Леггорн», лягушек, а также на гомогенатах печени беременных крыс и их эмбрионов, и плаценты.

Подопытные животные получали dl-триптофан внутривенно (10 мг/100 г живого веса); кортизон внутримышечно (5 мг/100 г живого веса); гидрокортизон подкожно (5 мг/100 г живого веса). Животных убивали через 4 часа после нагрузки. Определение активности триптофан-пирролазы производили методом Нокса [5]. После инкубирования в безбелковых фильтратах спектрофотометрически определяли прибыль

кинуренина на фоне 365 пир. Активность выражали в мкМ кинуренина на г свежей ткани при часовой инкубации.

Результаты опытов. Полученные результаты (табл. 1—3) показывают, что введение dl-триптофана вызывает повышение активности триптофан-пирролазы в гомогенатах печени крыс и кур в среднем в 4 раза, в гомогенатах печени лягушек в 3 раза.

Таблица 1
Активность триптофан-пирролазы в гомогенатах
печени крыс (в мкМ кинуренина на г печени за
час)

Контрольные крысы	Опытные крысы, на- грузка трип- тофаном	Опытные крысы, на- грузка кор- тизоном	Опытные крысы, на- грузка гил- рокортизо- ном
3,02	8,82	7,84	5,13
1,02	10,4	7,39	4,62
2,4	9,7	7,39	4,34
2,07	10,1	7,45	5,18
2,04	10,4	7,09	5,57
3,02	10,4	7,39	7,52
2,31	8,89	7,43	5,43
3	10,1	7,39	5,56
2,36	9,85	7,42	5,46
0,68	0,66 P < 0,001	0,20 P < 0,001	0,95 P < 0,001

В дальнейшем мы изучали влияние нагрузки триптофаном на изменение активности триптофан-пирролазы у беременных крыс, эмбрионов и плаценты.

Из приведенных в табл. 4 данных следует, что в норме у беременных крыс активность триптофан-пирролазы в среднем равна 3,56 мкМ, т. е. на 1,2 мкМ выше чем в печени нормальных крыс. Последнее свидетельствует о том, что, по-видимому, при беременности (т. е. в состоянии определенного стресса) из надпочечников в кровь выделяются большие количества кортикостероидов, в том числе и кортизона, что обуславливает повышение фона триптофан-пирролазной активности. При введении триптофана активность фермента повышается, достигая 8,24 мкМ, что говорит о пределе активирования фермента. В зародыше и плаценте обнаружить триптофан-пирролазу не удалось ни в норме, ни при индукции триптофаном.

Из литературы [7] известно, что отсутствие в первые дни у новорожденных крыс триптофан-пирролазы можно объяснить большой концентрацией ионов меди (ингибитор триптофан-пирролазы) в их печени, в 2 раза превосходящей концентрацию этих ионов у взрослых животных. Однако при добавлении этилендиаминтетрацетата (ЭДТА), легко связывающего Cu^{+2} , была обнаружена заметная активность триптофан-пирролазы в печени новорожденных крыс. Исходя из вышесказанного,

мы предположили, что при добавлении к гомогенатам плаценты и печени эмбриона ЭДТА можно будет наблюдать активность триптофан-пирролазы. Однако никакой активности и в этом случае нам не удалось обнаружить. В экспериментах со взрослыми беременными крысами эффект ЭДТА также не отмечен.

Таблица 2

Активность триптофан-пирролазы в гомогенатах печени кур (в мкМ кинуренина на г печени за час)

Контрольные куры	Опытные куры, нагрузка триптофаном	Опытные куры, нагрузка кортизоном
0,59	3,21	1,95
0,74	5,52	1,37
0,82	5,38	0,74
1,33	2,82	2,23
1,01	2,51	1,66
1,09	2,51	2,07
0,39	3,60	1,55
0,85	3,66	0,82
0,84	3,65	1,55
0,31	1,17	0,53
	P < 0,001	P < 0,005

Таблица 3

Активность триптофан-пирролазы в гомогенатах печени лягушек (в мкМ кинуренина на г печени за час)

Контрольные лягушки	Опытные лягушки, нагрузка триптофаном	Опытные лягушки, нагрузка кортизоном	Опытные лягушки, нагрузка гидрокортизоном
1,33	1,13	1,68	0,43
1,29	3,46	1,19	0,82
1,33	2,09	0,98	0,33
0,59	4,07	1,15	0,67
0,27	3,36	1,25	0,55
0,74	3,60	0,92	1,23
0,91	3,61	1,19	0,55
0,95	2,95	1,23	1,01
0,93	3,03	1,24	0,70
0,38	± 0,97	0,24	0,30
	P < 0,001	P > 0,2	P > 0,2

Таблица 4

Активность триптофан-пирролазы в гомогенатах печени беременных крыс (в мкМ кинуренина на г печени за час)

Беременные крысы	Беременные крысы, нагрузка триптофаном	Гомогенаты печени беременных крыс с ЭДТА	Гомогенаты печени за-родыша
3,17	7,41	3,01	—
3,44	7,65	4,03	—
4,48	8,69	4,34	—
3,93	8,69	3,01	—
3,17	7,81	3,01	—
3,64	8,5	3,48	—
3,43	8,58	3,40	—
3,22	8,60	3,38	—
3,56	8,24	3,46	—
± 0,45	± 0,53	± 0,51	—
	P < 0,001		

В следующей серии опытов была определена активность триптофан-пирролазы у крыс, кур, лягушек при введении кортизона и гидрокортизона. Результаты этих опытов приведены в табл. 1—4. Кортизон повышает активность фермента в гомогенатах печени крыс в 3 раза, у кур

почти в 2 раза, у лягушек не происходит адаптации фермента. Гидрокортизон также повышает активность у крыс, но в несколько меньшей степени, чем кортизон. У лягушек повышение активности не наблюдается. Однако следует отметить, что кортизон вводился внутримышечно, тогда как гидрокортизон подкожно, что, возможно, и дает такую разницу в их действии на организм животного. Как показали исследования Белями [2], введение кортизона крысам вызывает торможение роста последних. Это можно приписать тому, что кортизон, повышая активность триптофан-пирролазы, тем самым уменьшает запасы триптофана в организме, что, возможно, и ведет к торможению роста животного.

Ни в одном из опытов мы не обнаружили заметного образования кинуренина из dl-триптофана в гомогенатах мозга всех взятых животных, что, по-видимому, свидетельствует об отсутствии триптофан-пирролазы в тканях мозга.

Полученные данные говорят о том, что у животных, стоящих на разных ступенях эволюционного развития, активность триптофан-пирролазы проявляется по-разному, т. е. у более высокоорганизованных животных она выше, чем у низестоящих. Такая же закономерность наблюдается при адаптации фермента.

В ы в о д ы

1. Введение триптофана ведет к повышению активности триптофан-пирролазы в гомогенатах печени крыс, кур, лягушек. Кортизон повышает активность фермента у крыс и кур.

2. В гомогенатах головного мозга крыс, кур, лягушек триптофан-пирролазная активность не обнаружена.

3. Введение триптофана повышает активность триптофан-пирролазы в гомогенатах печени беременных крыс.

4. В гомогенатах печени эмбриона крыс и плаценты образование кинуренина из dl-триптофана не происходит ни в норме, ни при введении специфического субстрата триптофана.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 14.VII 1965 г.

Ի. Ն. ԱՍԿԱՆՅԱՆ

ՏՐԻՊՏՈՖԱՆ-ՊԻՐՐՈՂԱԶԱՅԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԱԴԱՊՏԱՑԻՈՆ ՓՈՓՈԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՏԱՐԲԵՐ ԿԵՆԴԱՆՆԵՐԻ ՄՈՏ

Ա. ս փ ո փ ո լ լ

Այս հաղորդման մեջ բերված են էվոլյուցիոն զարգացման տարրեր աստիճանների վրա կանգնած կենդանիների լյարդում և ուղեղում տրիպտոֆան-պիրրոլազայի ակտիվության փոփոխությունների վերաբերյալ կատարված հետազոտությունների արդյունքները:

Փորձերը ցույց են տվել, որ սպիտակ առնետների, հավերի և գորտերի լյարդում տրիպտոֆան-պիրրոլազայի ակտիվությունը բարձր է: Տրիպտոֆանի ու կորտիզոնի ազդեցության տակ առնետների և հավերի լյարդի ֆերմենտը ակտիվանում է: Գորտերի մոտ միայն տրիպտոֆանն է բարձրացնում ֆերմենտի ակտիվությունը: Բոլոր կենդանիների ուղեղի հոմոգենատներում dl-տրիպտոֆանից կինուրենին շի առաջանում: Տրիպտոֆանը ակտիվացնում է հղի առնետների լյարդի տրիպտոֆան-պիրրոլազան, բայց ոչ մի ազդեցություն չի իրագևում սաղմի լյարդի և ընկերրի վրա:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ефимочкина Е. Ф. Биохимия, 19, 68, 1954.
2. Bellamy D. J. Endocrinology, 1964, 31, № 1, 83—84.
3. Clouet D. H. and Gordon M. W. Archiv. Biochem. Biophys.
4. Gringard O. and Feigelson P. J. Biol. Chem. 1962, v. 237.
5. Knox W. E. Methods in enzymology v. 2, 1955.
6. Knox W. and Mehler A. H. Science 113, 237, 1951.
7. Spiegel E. and Spiegel M. Exp. cell. Rec. v. 36, № 2, 1964.