

М. А. ДАВТЯН, Б. А. АКОПЯН, А. П. КАРАПОГОСЯН, Р. О. ТОРЧЯН

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ДВУХВАЛЕНТНЫХ ИОНОВ НА АКТИВНОСТЬ АРГИНАЗЫ ОРГАНОВ КУР

При изучении влияния двухвалентных ионов на аргиназную активность в тканях кур выявлены определенные различия в характере влияния ионов марганца и кобальта на активность аргиназ почек и печени до и после диализа, а также при тепловой обработке полученных гомогенатов.

В последние годы обращается особое внимание на аргиназу. Полностью опровергнуто мнение Клементи о том, что наличие аргиназы является признаком уреотелизма [11, 12]. Доказано, что она имеет широкое биологическое распространение, что в природе существуют две ее формы: аргиназа уреотелическая, которая встречается у всех уреотелических организмов, и аргиназа неуреотелическая, обнаруженная почти во всех организмах независимо от типа азотистой экскреции [1, 3, 4]. По всей вероятности, неуреотелическая аргиназа имеет общебиологическое значение; в частности, предполагается ее участие в регуляции биосинтеза гистонов [3, 5, 6].

В связи с предполагаемой важной биологической ролью аргиназы интенсивно изучаются физико-химические и регуляторные свойства аргиназ различного происхождения. Птицы, являясь урикотелическими животными, не обладают полным орнитинным циклом, и тем не менее в их отдельных органах также обнаружена выраженная аргиназная активность [2, 4, 8]. Изучена внутриклеточная локализация, некоторые адаптивные свойства и физико-химические свойства аргиназ различных тканей кур. Исследования выявили определенные различия в этих показателях различных органов [2, 7, 9]. В частности, по некоторым своим физико-химическим показателям (K_m , ингибирование избытком субстрата, молекулярный вес, иммунологические свойства) аргиназа почек кур отличается от таковой других тканей, и в этом отношении она сходна с уреотелической аргиназой печени. Эти различия приводят к предположению о наличии разных регуляторных механизмов.

В данной работе проводилось сравнительное изучение влияния двухвалентных ионов на активность аргиназ почек и печени кур. Двухвалентные ионы, как известно, являются нормальными эффекторами аргиназ. Так, показано, что в интактных условиях в состав аргиназы (в том числе и аргиназы печени кур) входят ионы марганца, которые обеспечивают стабильность нативной четвертичной структуры фермента [15]. При этом следует подчеркнуть, что, согласно имеющимся данным, коли-

чество и прочность связи марганца с апоферментом различно при сравнении печеночной аргиназы кур и крыс [13—15].

Нами исследовалась аргиназная активность в присутствии разных двухвалентных ионов (марганец, кобальт, никель, железо) в различных условиях (диализ, прединкубация, тепловая обработка), вызывающих изменения в четвертичной структуре белка.

Активность аргиназы определялась в гомогенатах почек и печени кур путем инкубирования в присутствии L-аргинина (50 мкмоль) в течение одного часа, с последующим определением образовавшейся мочевины уреазным методом [18]. Отщепившийся под влиянием уреазы аммиак определялся микродиффузионным методом Зелингсона в модификации Силаковой и сотр. [10]. Активность фермента выражали в мкмольях образовавшейся мочевины на 1 г свежей ткани.

В первой серии экспериментов исследовалось влияние марганца, кобальта, никеля и железа на аргиназную активность почек и печени кур до и после диализа гомогената (продолжительность диализа 20 час. против воды). Полученные данные приведены в табл. 1. В таблице не представлены данные по влиянию никеля и железа, так как они не стимулировали активность указанного фермента.

Под влиянием ионов марганца и кобальта происходит резкое активирование аргиназы почек (более чем в десять раз), тогда как печеночная аргиназа активируется весьма незначительно. На основании этого можно предположить, что печеночная аргиназа насыщена двухвалентными ионами (либо вследствие прочной связи с апоферментом, либо вследствие высокой концентрации ионов в среде).

После диализа гомогенатов активность аргиназы в отсутствии двухвалентных ионов понижается более чем в два раза как в почках, так и в печени. При наличии же в среде этих ионов активность печеночной аргиназы полностью восстанавливается, тогда как в почках она, хотя и активируется, но не достигает первоначального уровня.

Эти данные говорят о том, что по крайней мере значительная часть марганца не так прочно связана с апоферментом как в печени, так и в почках, вследствие чего и удаляется при диализе. В связи с этим следует упомянуть, что, согласно имеющимся литературным данным, 50% марганца в аргиназе печени крыс очень прочно связано и не удаляется даже во время диализа [15]. Тот факт, что после диализа добавление ионов марганца полностью не восстанавливает активность почечной аргиназы можно объяснить либо возможным инактивированием фермента в течение 20 часового диализа, либо диализированием других необходимых для деятельности аргиназы компонентов. Японскими авторами, в частности, показано, что аргиназа печени собаки имеет многокомпонентную структуру, содержащую нуклеотидподобную фракцию, ответственную за реализацию влияния марганца [16]. Эти данные являются тем более допустимыми, что, как уже было отмечено, почечная аргиназа кур некоторыми своими свойствами близка к уреотелической аргиназе.

Таблица 1

Влияние ионов марганца и кобальта на аргиназную активность органов кур до и после диализа гомогенатов
(прирост мочевины в мкмоль/г свежей ткани)

Состояние пробы	Номера опытов	П о ч к и				П е ч е н ь			
		марганец		кобальт		марганец		кобальт	
		-	+	-	+	-	+	-	+
До диализа	1	80	1250	20	1305	3,50	11,50	13,50	18,30
	2	100	1300	90	1055	16,90	20,40	15,50	17,30
	3	125	1480	80	1250	19,80	25,00	19,60	18,70
	4	240	1940	175	1435	21,40	32,30	15,80	21,50
	5	175	1525	85	1185	20,60	28,10	26,60	34,10
	6	270	1910	30	845	23,00	12,60	21,60	26,10
	$M \pm m$	$158 \pm 31,8$	$1572 \pm 123,7$	$80 \pm 22,5$	$1179 \pm 108,9$	$17,5 \pm 2,86$	$21,6 \pm 3,25$	$17,6 \pm 2,21$	$17,9 \pm 2,60$
После диализа	1	75	220	30	285	9,60	43,20	5,10	80,0
	2	35	275	75	385	4,70	10,50	7,40	49,2
	3	115	415	75	220	6,00	13,70	6,80	20,2
	4	50	265	65	205	8,10	12,60	4,10	10,6
	5	40	210	165	730	13,50	29,30	2,60	8,9
	6	80	810	40	210	9,70	19,30	3,60	8,9
	$M \pm m$	$66 \pm 12,2$	$366 \pm 92,8$	$75 \pm 15,4$	$339 \pm 83,1$	$8,60 \pm 1,29$	$21,4 \pm 1,35$	$6,85 \pm 0,65$	$27,0 \pm 5,89$

Можно было бы предположить, что в течение одночасовой инкубации диализированного гомогената, ввиду недостаточного контакта марганца с апоферментом, активность фермента полностью не проявляется.

С целью выяснения этого вопроса нами проводились идентичные эксперименты с предварительной инкубацией (прединкубация) гомогената в течение 20 мин в присутствии ионов марганца. Согласно литературным данным, прединкубация в присутствии марганца значительно активизирует печеночную уреотелическую аргиназу [17].

Таблица 2

Влияние прединкубации гомогенатов почек и печени на эффект марганца при определении аргиназной активности (прирост мочевины в мкмоль/г свежей ткани)

Состояние пробы	Номера опытов	П о ч к и			П е ч е н ь		
		марганец			марганец		
		-	+		-	+	
		без прединкубации	без прединкубации	с прединкубацией	без прединкубации	без прединкубации	с прединкубацией
До диализа	1	125	1480	2175	19,9	25,0	25,2
	2	148	1310	2020	21,4	32,3	34,1
	3	375	1410	2030	20,6	28,1	22,6
	4	230	1595	2035	43,3	56,0	44,4
	5	240	1940	2160	41,4	50,1	46,0
	6	270	1940	2710	—	—	—
	M±m	231±36,7	1613±115,6	2188±107,9	29,3±3,97	37,7±6,20	34,4±4,70
После диализа	1	115	415	400	8,10	12,6	19,3
	2	82	365	380	13,50	29,3	32,0
	3	75	475	435	9,70	19,3	19,0
	4	20	360	345	18,70	62,2	66,0
	5	50	265	290	14,00	44,4	62,6
	6	80	810	940	14,01	42,3	49,8
	M±m	70,3±13,1	448±77,6	465±94,6	13,00±1,51	34,7±6,9	39,5±8,01

Данные табл. 2 показывают, что прединкубация значительно повышает активность аргиназы почек до диализа, после диализа этого не наблюдается. Этот факт делает допустимым приведенное выше мнение, согласно которому изменения, происходящие с ферментом при диализе, приводят к понижению и даже потере возможности реализации эффекта марганца. Прединкубация печеночного гомогената не приводит к активированию фермента и даже несколько (недостаточно) понижает ее активность. Это подтверждает мнение о том, что в гомогенате печени аргиназа насыщена ионами марганца.

Следовательно, диализ печеночного гомогената не приводит к понижению или потере возможности реализации эффекта марганца.

Таблица 3

Влияние тепловой обработки на аргиназную активность почек и печени кур (прирост мочевины в мкмоль/г свежей ткани)

Состояние пробы	Номера опытов	П о ч к и					
		0°C (5 мин)			60°C (5 мин)		
		марганец			марганец		
		-	+		-	+	
		без пред-инкубации	без пред-инкубации	с пред-инкубацией	без пред-инкубации	без пред-инкубации	с пред-инкубацией
До диализа	1	270	1940	2710	20	675	875
	2	105	2080	2585	30	820	915
	3	50	1460	1660	25	435	575
	4	155	1910	2340	35	810	900
	5	125	1744	2180	30	730	810
	M±m	144±37	1827±105,4	2295±186,3	28±2,6	694±71,0	821±66,3
После диализа	1	50	810	940	50	170	275
	2	35	950	1190	10	220	335
	3	15	480	725	25	40	95
	4	35	620	810	45	55	165
	5	25	590	780	40	50	155
	M±m	32±5,91	690±85,1	889±84,5	34±7,3	109±37,2	205±44,1
До диализа	П е ч е н ь						
	1	36,2	90,6	42,6	14,1	36,1	28,4
	2	41,4	50,0	46,2	6,0	20,9	30,9
	3	43,3	56,1	44,4	9,3	19,7	20,7
	4	15,0	19,4	21,6	0,27	13,3	21,6
	5	19,1	25,2	31,2	3,50	5,3	13,6
M±m	31,0±7,3	48,2±10,9	37,4±4,5	6,67±2,22	19,0±4,9	23,0±3,0	
После диализа	1	18,7	62,2	66,0	6,12	33,6	38,0
	2	14,0	44,4	52,6	1,07	28,8	34,2
	3	14,0	42,3	49,8	4,03	24,0	30,8
	4	8,7	16,5	15,6	0,61	5,9	6,5
	5	4,9	13,3	13,9	2,73	3,7	5,6
	M±m	12,8±2,8	33,7±9,3	39,5±10,8	2,81±0,7	19,2±6,3	23,0±2,1

Эти же эксперименты нами проводились на фоне тепловой обработки фермента (гомогенат предварительно инкубировался при температуре 60°C в течение 5 мин).

Приведенные в табл. 3 данные показывают, что тепловая обработка, хотя и понижает активность аргиназы печени (приблизительно на 40%), однако те же закономерности полностью сохраняются. Это еще раз доказывает, что печеночный фермент достаточно насыщен марганцем и не обладает лабильными механизмами регуляции под влиянием названного двухвалентного иона.

Что же касается почечного гомогената (табл. 3), то при его тепловой обработке аргиназа также значительно инактивируется (приблизительно на 50%), однако до диализа фермент сохраняет способность активироваться ионами марганца. После диализа, как это наглядно видно из таблицы, у изучаемого фермента резко снижается возможность активироваться ионами марганца. Вероятно, тепловая обработка делает фермент более уязвимым в отношении диализа.

Совокупность полученных данных свидетельствует о том, что почечная и печеночная аргиназы кур значительно отличаются друг от друга также и по характеру активирования двухвалентными ионами. По всей вероятности, почечный фермент обладает более сложными и в то же время более лабильными возможностями активирования.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии

Поступило 23.VII 1973 г.

Մ. Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ, Բ. Ա. ԱԿՈՅԱՆ, Հ. Պ. ԿԱՐԱ-ՊՈՂՈՍՅԱՆ, Ի. Հ. ԹՈՒԶՅԱՆ

**ԵՐԿԱՐԺԵՔԱՅԻՆ ԻՈՆՆԵՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅԱՆ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ
ՀԱՎԵՐԻ ՕՐԳԱՆՆԵՐԻ ԱՐԳԻՆԱԶԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐՍ**

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հողվածք նվիրված է երկարժեքային իոնների ազդեցության առանձնահատկությունների ուսումնասիրությանը, հավերի հյուսվածքների արգինազային ակտիվության վրա:

Բացահայտված են որոշակի տարբերություններ երկարժեքային իոնների ազդեցության բնույթի վերաբերյալ երիկամային և լյարդի արգինազայի վրա դիալիզի և տարբեր ջերմաստիճանների պայմաններում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бунятян Г. Х., Давтян М. А. II Всесоюзн. биох. съезд, Ташкент, 1969.
2. Бунятян Г. Х., Петросян Л. А. и Давтян М. А. Вопросы биохимии мозга, Ереван, 6, 23, 1970.
3. Давтян М. А. Вопросы биохимии мозга. Ереван, 4, 237, 1968.
4. Давтян М. А. и Бунятян Г. Х. Биохимия, 35, 2, 412, 1970.
5. Давтян М. А., Бунятян Г. Х., Баблоян Р. С. II всесоюз. биох. съезд, Ташкент, 1969.
6. Давтян М. А., Бунятян Г. Х., Геворкян Д. М., Петросян Л. А. Вопросы биохимии мозга. Ереван, 6, 37, 1970.
7. Давтян М. А., Петросян Л. А. Биологический журнал Армении, 23, 5, 1970.
8. Давтян М. А., Бунятян Г. Х., Геворкян Д. М., Баблоян Р. С., Петросян Л. А. II Всесоюзн. биох. съезд, Ташкент, 1969.

9. Сарухнян Ж. Г., Петросян Л. А., Баблоян Р. С., Давтян М. А. Биологический журнал Армении, 26, 2, 1973.
10. Силакова А. И., Трум Г. И., Явилякова А. Вопросы медицинской химии, 8, 5, 77, 1962.
11. Clementi A. Atti. Accad. Lincei, 23, 612, 1914.
12. Clementi A. Atti. Accad. Lincei, 27, 299, 1918.
13. Grazi E., Magri E. Biochem. J. 126, 4, 1972.
14. Hirsch-Kolb H., Grenberg D. J. Biol. Chem., 23, 243, 1968.
15. Hirsch-Kolb H. J., Kolb H. J., Greenberg D. M. J. Biol. Chem. 246, 2, 1971.
16. Moricova R., Itiro S. J. Nara Med. Assoc. 19, 4, 558, 1968.
17. Ratner S. Adv. Enzymol., 15, 319, 1954.
18. Seligson H. J. Lab. and Clin. Med., 38, 324, 1951.