

ДИНАМИКА АРГИНАЗЫ И ФЕРМЕНТОВ БИОСИНТЕЗА ПРОЛИНА РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ КРЫС

А. Х. АГАДЖАНЯН, Л. М. АРУТЮНЯН

Изучена динамика аргиназы и ферментов биосинтеза пролина различных органов в онтогенезе крыс. Активность аргиназы печени новорожденных крыс почти в 3 раза выше, чем у эмбриона. В молочной железе устанавливается корреляционная зависимость между активностью аргиназы и ферментами биосинтеза пролина.

Кроме уреотелической аргиназы, обнаруженной в печени уреотелических животных и связанной с циклом мочевины, имеется также неуреотелическая аргиназа. Доказано сосуществование этих двух форм аргиназы в одном и том же органе и даже в одной и той же клетке [4]. В экстрагелатических тканях особенно хорошо изучена аргиназа молочной железы [15], почек [12] и мозга [5]. Предполагают, что роль этой аргиназы заключается в участии биосинтеза аргининбогатых гистонов [6], полиаминов [13], пролина [1, 14] и др.

В последнее время накопились факты, выявляющие корреляционную зависимость между активностью аргиназы и ферментами биосинтеза пролина в молочной железе [15], в жировом теле шелковичной моли [14], в онтогенезе тутового шелкопряда [1].

В наших исследованиях подробно изучен биосинтез пролина в эмбрионе, гусенице [1], куколке и бабочке [2] тутового шелкопряда и у инфузорий *P. multimicronucleatum* [3].

Высокая активность ферментов биосинтеза пролина и аргиназы характерна для гусеничной стадии (особенно в жировом теле), а также бабочек. По данным нашей лаборатории, тутовый шелкопряд (главным образом жировое тело) обладает выраженной аргиназной активностью, значительно варьирующей в онтогенезе. При сравнении этих данных с полученными нами выявляется определенная корреляция между активностью аргиназы и ферментами биосинтеза пролина из орнитина в онтогенезе тутового шелкопряда.

Полагают, что неуреотелическая аргиназа некоторых организмов участвует в механизме биосинтеза пролина из аргинина [1, 14, 15]. В этом отношении особенно убедительны результаты изучения свойств изоэнзимов аргиназы аэробных инфузорий [7], у которых пролин неконкурентно ингибировал активность и подавлял индукцию одного из изоэнзимов аргиназы. Этот двойной контроль (аллостерический и генетический) аргиназы пролином указывает на функционирование фермента в системе биосинтеза пролина из аргинина.

В литературе имеются единичные работы по изучению аргиназы в онтогенезе крыс [10]. Установлено, что активность этого фермента в печени увеличивается после родов. В печени плода он обнаруживается в поздний период беременности [9].

В настоящей работе мы изучали динамику активности аргиназы и ферментов биосинтеза пролина в онтогенезе крыс.

Материал и методика. Объектами исследования служили белые крысы породы Вистар, полученные из Арзвинской опытной станции Института зоологии АН АрмССР.

Ферментативную активность изучали в целых гомогенатах различных органов эмбриона, новорожденных, беременных и лактирующих крыс. Готовился 10%-ный гомогенат печени, почек и мозга и 1%-ный гомогенат молочной железы в 20 мМ КСl и 80 мМ глицинового буфера (рН 9,5) в стеклянном гомогенизаторе типа Поттера-Эльведгема.

Аргиназную активность определяли методом Ратнер [17], путем инкубирования гомогената в присутствии L-аргинина и Mn^{2+} в глициновом буфере (рН 9,5) с последующим определением мочевины методом Арчиальда [8].

Для определения биосинтеза пролина гомогенат инкубировался при 37° в течение часа в присутствии L-орнитина и L-кетоглутарата в калий-фосфатном буфере (рН 7,6), при этом под влиянием орнитин- δ -трансаминазы (ОТА) орнитин превращался в Δ^1 -пирролин-5-карбоксилат, после чего добавлялся свежий гомогенат и НАДН. Смесь инкубировалась еще 15 мин. Реакцию останавливали добавлением 96° этилового спирта. Пробы центрифугировались и в надосадке определяли пролин. Пролин определялся хроматографией на бумаге с последующим колориметрическим определением окраски по Грабетовой и Тупп [11]. Элюция пролина проводилась в нашей модификации: в 4 мл смеси ацетон—вода в соотношении 2:1. Интенсивность окраски измерялась на СФ-4А с длиной волны 595 мкм.

Результаты и обсуждение. Данные о динамике аргиназы различных органов в онтогенезе крыс приведены в табл. 1, 2 и на рис. 1, 2.

Полученные данные показывают, что в первый день рождения активность аргиназы печени не отличается от таковой у эмбриона, на второй же день она возрастает в 2—3 раза. Это объясняется тем, что у крыс после родов, по-видимому, индуцируется новый изоэнзим. В почках она также одинакова у новорожденных и эмбриона. В мозге же почти в два раза выше, чем у эмбриона и взрослых крыс. Эти данные вполне согласуются с данными Давтяна [6].

Таблица 1
Активность аргиназы различных органов эмбриона и новорожденных крыс, мкм на 1 г свежей ткани (средние данные шести опытов)

Органы	Эмбрион	Новорожденные крысы				
		д н и				
		2	5	7	11	17
Печень	2692 \pm 82	8960 \pm 154	10754 \pm 171	11198 \pm 233	10716 \pm 257	11872 \pm 281
Почки	497 \pm 19,5	539 \pm 43	633 \pm 30	603 \pm 13	521 \pm 33	220 \pm 6
Мозг	76 \pm 4,9	95 \pm 7	111 \pm 5,5	138 \pm 4,6	123 \pm 2,8	109 \pm 1,1

Активность аргиназы различных органов беременных и лактирующих крыс, мки на 1 г свежей ткани (средние данные семи опытов)

Крысы	Дни	Органы и ткани			
		печень	почки	мозг	молочная железа
Беременные	19	23004±187	2051±37,1	58,3±4,1	831±27
Лактирующие	3	16940±752	2334±139	42,8±3,8	917±59,1
	5	18056±902	1179±31	57,7±3,5	1203±41,3
	7	17844±796	1657±189	482±7,2	1114±28,2
	11	17548±807	1563±46	56,2±2,9	1281±154
	13	17744±809	1589±191	42±2,4	1325±195
	15	17201±448	1690±192	41,2±2,7	1739±113
	19	17683±858	1608±187	56±0,1	2378±169
	22	18977±682	1686±81	52,5±0,7	1013±103
	24	18221±501	1346±199	48,3±0,6	885±110
	28	21907±479	2309±34	52±3,1	860±72

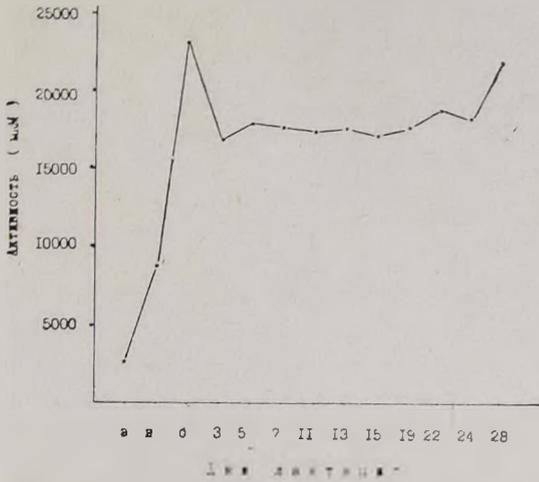


Рис. 1. Динамика активности аргиназы печени в онтогенезе крыс Э—эмбрион; Н—новорожденные; б—беременные крысы.

Данные табл. 2 и рис. 1, 2 показывают, что аргиназная активность печени и почек в процессе лактации не подвергается заметным изменениям. Эти органы у беременных крыс обладают высокой активностью по сравнению с лактирующими крысами, у которых к концу лактации этот показатель вновь повышается. В мозге активность аргиназы изменяется скачкообразно, причем у беременных крыс она несколько выше.

Интересна динамика активности аргиназы в молочной железе. В процессе лактации с 3-го по 19-й день аргиназная активность увеличивается, приобретая максимальное значение на 19-й день (в 2,5 раза по сравнению с начальной стадией лактации), после чего постепенно уменьшается по 28-й день лактации.

Активность ферментов биосинтеза пролина различных органов эмбриона, новорожденных, беременных и лактирующих крыс показана в табл. 3, 4 и на рис. 3.

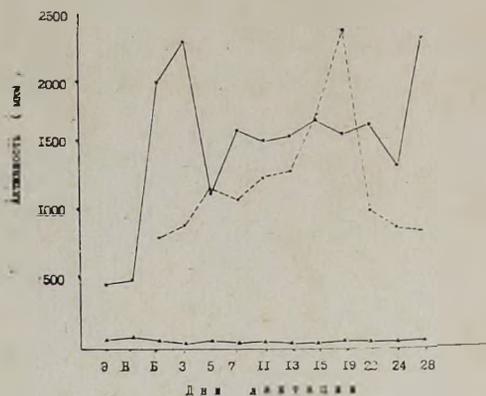


Рис. 2. Динамика активности аргиназы почек, мозга и молочной железы в онтогенезе крыс.

—●— почки; —●— молочная железа; —▲— мозг.

Таблица 3
Активность ферментов биосинтеза пролина различных органов эмбриона и новорожденных крыс, мкм на 1 г свежей ткани (средние данные шести опытов)

Органы	д и и	
	19	17
	Эмбрион	Новорожденные крысы
Печень	42,5±2,0	34,4±1,8
Почки	30,6±1,8	43,7±1,9
Мозг	18,6±0,75	55,2±2,1

Таблица 4
Активность ферментов биосинтеза пролина различных органов беременных и лактирующих крыс, мкм на 1 г свежей ткани (средние данные шести опытов)

Крысы	Дни	О р г а н ы и т к а н и			
		печень	почки	мозг	молочная железа
Беременные	19	11,9±2,4	26,7±2,5	17,9±1,8	19,9±2,8
Лактирующие	3	17,9±1,7	26,7±2,5	16,2±2,5	78,8±4,0
	5	18,1±1,0	38,8±3,9	17,0±1,5	46,4±3,0
	7	21,2±4,0	48,4±1,6	25,9±3,9	58,5±3,7
	11	14,1±1,4	41,4±1,5	27,4±1,8	59,8±1,8
	15	12,4±1,0	28,5±4,5	16,4±4	59,7±1,9
	19	12,5±1,7	39,7±3,5	45,0±1,8	88,0±6,5
	22	3,6±0,8	25,1±2,4	6,4±0,05	32,3±1,7
	24	5,9±0,9	26,1±1,4	16,1±3,8	26,0±1,8
28	3,8±0,4	26,9±1,9	18,3±0,15	32,8±2,4	

Согласно этим данным, активность ферментов биосинтеза пролина значительно выше в печени эмбриона и новорожденных крыс, чем у беременных и лактирующих.

Динамика ферментов биосинтеза пролина в разных органах имеет следующую закономерность: в печени, почках, мозге активность этих ферментов сначала увеличивается, по 7-й день лактации (в мозге по 7-й и 11-й дни лактации), после чего вновь уменьшается по 28-й день и приобретает такое же значение, как и у беременных крыс. В мозге вто-

рой пик активности появляется на 19-й день лактации. Как отмечалось выше, почти такая же закономерность выявлялась в активности аргиназы.

В молочной железе активность ферментов биосинтеза пролина изменяется несколько иначе: на 3-й день лактации она высокая, после чего несколько уменьшается, а затем повышается и приобретает максимальное значение на 19-й день, после чего вновь постепенно уменьшается до конца лактации. Такова же закономерность изменения активности аргиназы в молочной железе (рис. 2). Таким образом, лишь в молочной железе устанавливается корреляционная зависимость между активностью аргиназы и ферментами биосинтеза пролина.

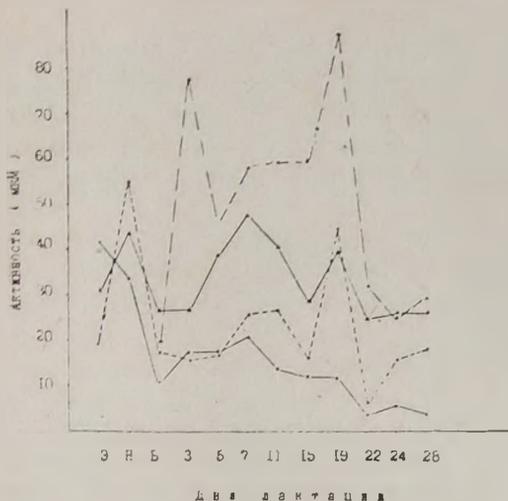


Рис. 3. Динамика активности ферментов биосинтеза пролина различных органов в ортогенезе крыс. ● — печень; ▲ — почки; ○ — мозг; ▲ — молочная железа.

Из табл. 4 и рис. 3 видно также, что активность ферментов биосинтеза пролина во всех органах беременных крыс ниже, чем у лактирующих. У лактирующих крыс активность ферментов биосинтеза пролина ниже только в молочной железе. Это объясняется различной ролью пролина у беременных и лактирующих крыс. Высокая активность ферментов биосинтеза пролина во всех органах лактирующих крыс объясняется, по-видимому, высоким содержанием пролина, необходимого для образования молока, а также для осуществления других физиологических функций при лактации.

Изученные органы отличаются не только по активности ферментов биосинтеза пролина, но и по эндогенному содержанию его, особенно почки и молочная железа. Однако в мозге пролин отсутствует или обнаруживается в виде едва заметных следов. Подобное явление наблюдалось нами также у мурашей тутового шелкопряда [1]. Это можно объяснить либо недостаточным содержанием субстрата в мозге, либо тем, что, по всей вероятности, мозг, наряду с высокой активностью ферментов биосинтеза пролина, обладает также высокой оксидазной активностью, которая, к сожалению, пока не изучена.

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии

и лаборатория сравнительной эволюционной биохимии

Поступило 2.VII 1979 г.

Ս. Խ. ԱՂԱԶԱՆՅԱՆ, Լ. Մ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է արգինազային ակտիվությունը և պրոլինի բիոսինթեզի ֆերմենտները առնետների տարբեր օրգաններում: Նորածին առնետների լյարդի արգինազան մոտ 3 անգամ գերազանցում է սաղմի արգինազային: Հղի առնետների լյարդը և երիկամը օժտված են արգինազային բարձր ակտիվությամբ: Համեմատած լակտացիայի շրջանում գտնվող առնետների հետ, իսկ պրոլինի բիոսինթեզի ֆերմենտների վերաբերյալ նկատվում է հակառակ պատկերը:

Լակտացիայի շրջանում գտնվող առնետների կաթնագեղձի արգինազային և պրոլինի բիոսինթեզի ֆերմենտների ակտիվությունները աստիճանաբար ավելանում են մինչև 19-րդ օրը, որից հետո նվազում են մինչև լակտացիայի վերջը: Այտպիսով, կաթնագեղձում կոռելյացիոն կապ է սահմանվել արգինազային և պրոլինի բիոսինթեզի ֆերմենտների ակտիվությունների միջև:

DYNAMICS OF ARGINASE AND ENZYMES OF PROLINE BIOSYNTHESIS OF DIFFERENT ORGANS IN RAT ONTOGENESIS

A. Kh. AGADJANIAN, L. M. ARUTYUNIAN

The dynamics of arginase and enzymes of proline biosynthesis of different organs in rat ontogenesis has been studied. The liver arginase activity of new-born rats is 3 times higher than that of embryo. A correlation between the activity of arginase and enzymes of proline biosynthesis in mammary glands has been established.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Агаджанян А. Х., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 27, 5, 1974
2. Агаджанян А. Х., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 28, 10, 1975.
3. Агаджанян А. Х., Заробян Т. Я., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 28, 5, 1975.
4. Давтян М. А., Бунятыан Г. Х. Биохимия, 35, 2, 412, 1970.
5. Давтян М. А., Бунятыан Г. Х., Гезоркян Д. М., Баблоян Р. С., Петросян Л. И. Тез. II Всесоюзн. биохим. съезда, Ташкент, 1969.
6. Давтян М. А. Докт. дисс., Ереван. 1970.
7. Заробян Т. Я., Агаджанян А. Х., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 29, 10, 1976.
8. Archibald R. M. J. Biol. chem., 1956, 121, 1944.
9. Bradley M. O. Develop. Biol, 33, 1, 1973.
10. Greengard O., Sahib M. K., Knox W. E. Arch. Biochem. Biophys., 137, 477, 1970
11. Hrabetova E., Tupy Z. J. Chromatogr, 3, 2, 1960.
12. Kaysen G. A., Strecker H. J. Biochem. J., 133, 779, 1973.
13. Russel D. H., Mcvicker T. A. Biochem. J., 130, 71, 1972.
14. Reddy S. R. R., Campbell J. W. Biochem. J., 115, 495, 1969.
15. Yip M. C., Knox W. E. Biochem. J. 127, 823, 1972.