

ИНГИБИРОВАНИЕ АРГИНАЗЫ РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНОВ КРЫС
АМИНОКИСЛОТАМИ В ТЕЧЕНИЕ ОНТОГЕНЕЗА

Л. М. АРУТЮНЯН, А. Х. АГАДЖАНЯН

Изучалась локализация аргиназы и ингибирование ее активности аминокислотами в различных органах крыс. У эмбриона по сравнению с новорожденными, беременными и лактирующими крысами аминокислоты сильнее ингибируют аргиназу печени, почек мозга, L-аминомасляная кислота не ингибирует активность аргиназы печени, а в мозге, почках и молочной железе она оказывает сильное ингибирующее влияние.

Ключевые слова: ингибирование, аргиназы, аминокислоты

Ингибирование аргиназы некоторыми аминокислотами и их аналогами изучено Кейсеном и Штрекером [7], по данным которых канаванин, гомоаргинин и лейцин ингибируют лишь аргиназу печени, в то время как гомоцистеин, лизин, пролин и орнитин являются более строгими ингибиторами аргиназы почек. Глутамат в относительно высокой концентрации ингибирует активность печеночного фермента, не оказывая особого влияния на фермент почек. Лизин и орнитин считаются конкурентными ингибиторами для аргиназы улитки и печени крыс [8]. Подробно изучено ингибирование аргиназы печени овцы 18-ю аминокислотами [10], среди которых орнитин, лизин и пролин выступали как конкурентные ингибиторы аргиназы, а валин представлял смешанный тип ингибитора.

Особый интерес представляет ингибирование аргиназы пролином, угнетающим активность очищенной аргиназы печени и почек крыс [1], печени овцы [10] и опухолей молочной железы [11], причем в последнем случае это носит конкурентный характер; у инфузорий *P. multigroenocleatam*, как известно, пролин ингибирует аргиназу неконкурентно [3]. Предполагается, что неуреотелическая аргиназа некоторых организмов участвует в механизме биосинтеза пролина из аргинина [1, 12, 13]. В этом отношении особенно убедительны результаты исследования свойств изоэнзимов аргиназы аэробных инфузорий [3], свидетельствующие о том, что при индивидуальном развитии организмов, очевидно, меняется изоэнзимный спектр аргиназы как в качественном, так и в количественном отношении.

Для подтверждения этого предположения мы исследовали ингибирование аргиназной активности в органах крыс различными аминокислотами в течение индивидуального развития.

Материал и методика. Объектом исследования служили белые крысы породы Вистар, полученные из Арзвинской опытной станции Института зоологии АН Армянской ССР.

Ингибирование активности аргиназы аминокислотами (орн, лиз, про, α -АМК, вад, лей, илей, α -аминоизомасляная кислота) изучали в целых гомогенатах различных органов эмбриона, новорожденных и лактирующих крыс. Готовили 10%-ный гомогенат печени, почек, мозга и 1%-ный—молочной железы в 20 мм КС1 и 80 мм глицинового буфера (рН 9,5) в стеклянном гомогенизаторе типа Поттер-Элвейджма. Гомогенаты центрифугировали при 40 000 g. Все аминокислоты брались в концентрации 50 мкм, с рН, заранее доведенным до 9,5.

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

Результаты и обсуждение. Согласно приведенным в табл. 1 данным, в печени эмбриона и новорожденных крыс аргиназа локализована в надосадочной фракции, а в почках и мозге— в надосадке и в осадке. Интересно распределение аргиназы в молочной железе беременных и лактирующих крыс. У первых она локализована в основном в надосадке, а у вторых—почти одинаково в надосадке и осадке. У лактирующих крыс активность фермента в целом гомогенате почти в два раза уступает таковой в сумме надосадка и осадка. Вероятно, подобное распределение активности объясняется освобождением надосадочной фракции аргиназы от ингибирующих агентов.

В табл. 2 и на рис. 1, 2, 3 приводятся данные об ингибировании аргиназы аминокислотами различных органов эмбриона, новорожденных (13-й день после родов), беременных (17-й день) и лактирующих (16-й день) крыс.

Данные табл. 2 показывают, что у эмбриона изученные аминокислоты значительно сильнее ингибируют аргиназу печени, мозга и особенно почек по сравнению с новорожденными, беременными и лактирующими крысами. У новорожденных крыс аргиназа почек и мозга слабо ингибируется всеми испытанными аминокислотами по сравнению со взрослыми крысами. Сравнивая в этом аспекте беременных и лактирующих крыс, можно отметить большую степень ингибирования в молочной железе беременных крыс по сравнению с лактирующими. В мозге беременных крыс все изученные аминокислоты слабо ингибируют активность аргиназы по сравнению с лактирующими животными. В молочной железе лактирующих крыс этот показатель в процессе лактации возрастает.

В онтогенезе крыс на аргиназную активность всех изученных нами органов сильное ингибирующее влияние оказывают орнитин и лизин. Примечательно, что пролин меньше ингибирует активность фермента печени, чем в почках. Этот факт свидетельствует о том, что аргиназа почек обеспечивает главным образом продукты биосинтеза пролина, что в равной мере относится и к аргиназе мозга. Кстати, данные, полученные в нашей лаборатории [2], подтверждают, что биосинтез пролина в почках и мозге выше, чем в печени. Эти данные косвенно подтверждают положение Бунятяна и Давтяна [4], согласно которому в природе существуют две формы аргиназы—уреотелическая и неурео-

Таблица 1

Локализация аргиназы в различных органах эмбриона, новорожденных крыс и в молочной железе беременных и лактирующих крыс, мкм/час/1 г ткани

Органы и ткани	Фракции	Эмбрион		Новорожденные крысы								Беременные		Лактирую- щие	
				д н и											
		18		2		5		9		17					
		актив- ность	%	актив- ность	%	актив- ность	%	актив- ность	%	актив- ность	%	актив- ность	%	актив- ность	%
Печень	целый гомогенат надосадов осадов	3395	100	8452	100	11195	100	10518	100	9260	100				
		2754	81,1	10062	119	12610	113	10745	102	11656	125				
		122	3,6	751	8,9	797	7,1	744	7,0	657	7,0				
Почки	целый гомогенат надосадов осадов	264	100	530	100	628	100	531	100	347	100				
		592	224	419	79	568	90,5	443	83,5	366	105				
		165	62	379	71	334	53,2	344	65	205	59,1				
Мозг	целый гомогенат надосадов осадов	89,5	100	96,5	100	109	100	111	100	78,3	100				
		73,4	82	108	112	130	122	102	92	191	244				
		56,7	64	81,2	84	79,0	73	81,2	73	65	85				
Молочная железа	целый гомогенат надосадов осадов											612	100	1089	100
												486	79,4	1193	109,6
												94	15,3	984	90,3

Таблица 2

Ингибирование аргиназы различных органов крыс аминокислотами, %

	Дни	Органы и ткани	Активность, мкм/час 1 г ткани	Аминокислоты							
				L-орн	L-лиз	L-про	α -АМК	L-вал	L-лей	L-илей	α -аминоизомасляная кислота
Эмбрион	18	печень	3236	83,1	68,2	47,8	56,3				
		почки	302	82,2	72,4	48,3	61,6				
		мозг	121	56,8	59,8	54,5	47,5				
Новорожденные крысы	11	печень	8075	58,4	59,8	37,9	53,8	46,9	45,1	43,4	15,2
		почки	469	37,7	48,4	44,7	42,9	44,7	32,0	42,9	27,9
		мозг	97	62,6	32,5	48,2	54,8	66,2	40,8	62,6	36,1
Беременные крысы	17	печень	28850	63,8	57,9	47,2	48,4	61,0	67,2	73,4	9,6
		почки	1944	60,7	70,0	60,7	64,1	75,2	65,0	71,8	47,9
		мозг	74	48,4	49,2	43,7	52,4	64,1	55,5	70,3	28,0
		молочная железа	888	73,3	77,4	59,9	62,7	85,1	65,7	79,9	53,1
Лактирующие крысы	16	печень	17324	67,5	59,0	39,5	49,5	65,0	64,5	72,0	18,0
		почки	1841	80,9	86,9	79,1	82,7	86,9	76,9	76,9	75,0
		мозг	47	37,5	59,2	41,0	59,2	68,6	59,2	59,2	26,3
		молочная железа	848	58,2	66,0	58,2	60,8	79,4	66,0	75,2	34,2

телическая, причем последняя не связана с механизмом нейтрализации аммиака и играет иную физиологическую роль, в частности участвуя в биосинтезе пролина и глутамата.

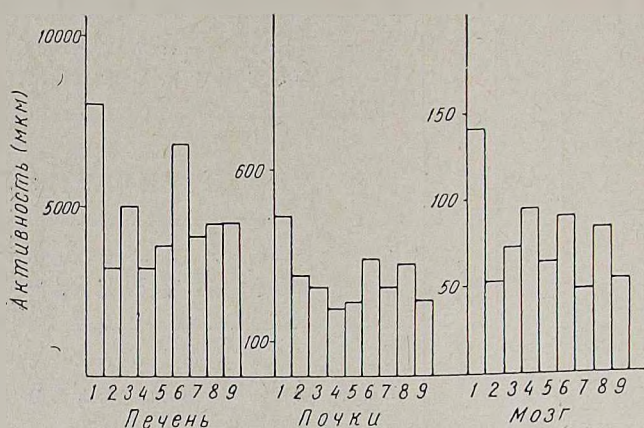


Рис. 1. Ингибирование аргиназы различных органов новорожденных крыс аминокислотами (13-й день после родов).

1. Без ингибиторов, 2. L-ори, 3. L-лиз, 4. L-про, 5. α-АМК, 6. α-аминоизомасляная кислота, 7. L-вал, 8. L-лей, 9. L-илей.

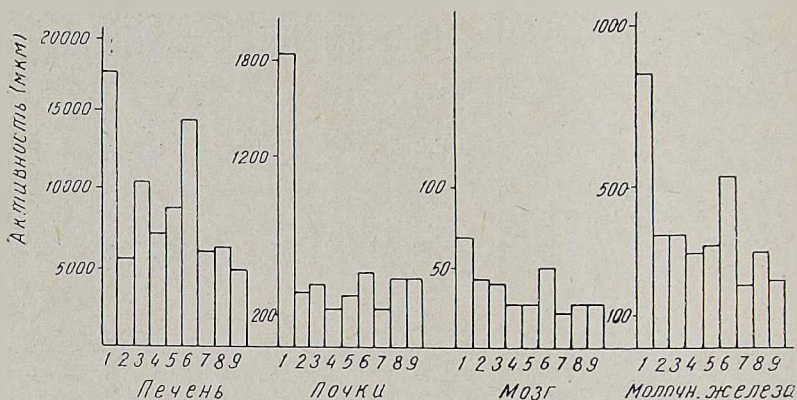


Рис. 2. Ингибирование аргиназы различных органов беременных крыс аминокислотами (17-й день беременности).

1. Без ингибитора, 2. L-орн, 3. L-лиз, 4. L-про, 5. α-АМК, 6. α-аминоизомасляная кислота, 7. L-вал, 8. L-лей, 9. L-илей.

Интересно также ингибирующее влияние α-аминомасляной и α-аминоизомасляной кислот на аргиназную активность. ГАМК не является ингибитором ни в одном из изученных нами органов, в некоторой степени даже стимулирует активность фермента.

Более интересным, на наш взгляд, является механизм ингибирования аргиназы α-аминоизомасляной кислотой, так как эта аминокислота в метаболическом отношении инертна. Она почти не ингибирует аргиназу печени и, наоборот, в высокой степени тормозит активность

фермента в мозге, почках и молочной железе. Если еще учесть результаты, полученные Аустиком [6], и наши данные [11], согласно которым указанная аминокислота ингибирует активность пиролин-5-карбоксилатредуктазы печени кур, то ингибирующее влияние α -аминоизомасляной кислоты на аргиназу, действующую в направлении биосинтеза пролина, станет очевидным.

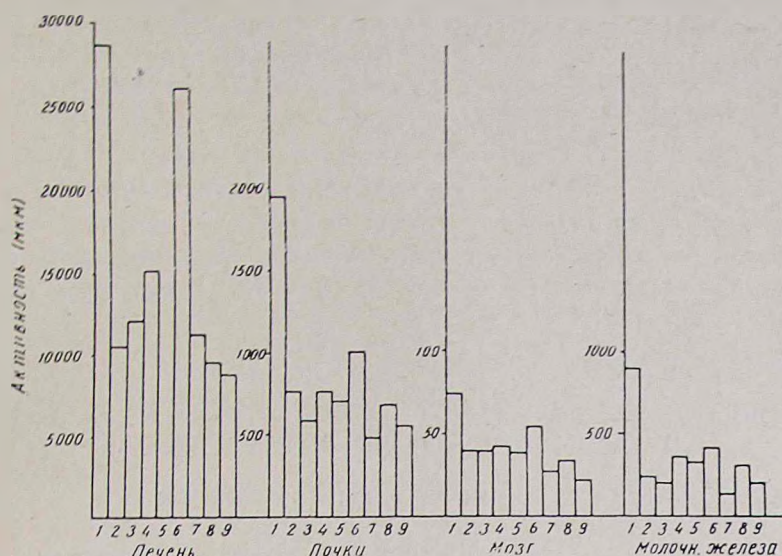


Рис. 3. Ингибирование аргиназы различных органов лактирующих крыс аминокислотами (16-й день лактации).

1. Без ингибитора, 2. L-орн, 3. L-лиз, 4. L-про, 5. α -АМК, 6. α -аминоизомасляная кислота, 7. L-вал, 8. L-лей, 9. L-илей.

Изучено также влияние δ -аминовалериановой кислоты на аргиназу различных органов. Эта аминокислота интересовала нас в том отношении, что, по мнению некоторых исследователей, она образуется из пролина и, следовательно, может быть связана с обменом аргинина. Однако мы не обнаружили ее ингибирующего влияния ни в одном из изученных органов. Это подтверждается также работами других авторов [1].

Глутамат в равной степени ингибирует аргиназу в почках, мозге и молочной железе; в печени же она почти не ингибируется, хотя содержит в молекуле 5 углеродных атомов. Аналогичные данные имеются также в литературе [7, 10].

Интересно ингибирование аргиназы разветвленными аминокислотами—валином, лейцином и изолейцином. Об ингибировании этими аминокислотами аргиназы печени овцы сообщали также Рао и Редди [10]. По-видимому, они ингибируют аргиназу благодаря наличию в молекуле 5 углеродных атомов.

ԱՐԳԻՆԱԶԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԸՆԿՃՈՒՄՆ ԱՄԻՆԱԹՈՒՆԵՐՈՎ
ԱՌՆՏՆԵՐԻ ՏԱՐԲԵՐ ՕՐԳԱՆՆԵՐՈՒՄ՝ ՕՆՏՈԳԵՆԵԶԻ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ

Լ. Մ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Ա. Խ. ԱԳԱԶՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է արգինազայի ներբջջային լուկալիզացիան և նրա ակտիվության ընկճումն ամինաթթուներով՝ առնետի տարբեր օրգաններում՝ լյարդի արգինազան լուկալիզված է հիմնականում վերնստվածքում, իսկ երկամներում և կաթնագեղձերում՝ ինչպես վերնստվածքում, այնպես էլ նստվածքում։ Սաղմի մոտ լյարդի, երիկամների և ուղեղի արգինազաների ընկճումը, հետազոտված ամինաթթուներով, ավելի ուժեղ են նորածնի, հղի և լակտացիայի շրջանում գտնվող առնետների համեմատությամբ։ Ա-ամինաիդոկարագաթթուն չի ընկճում լյարդի արգինազայի ակտիվությունը, սակայն զգալի չափով ընկճում է այլ օրգանների արգինազաները, ուր վերջիններս հիմնականում զործում են պրոլինի բիոսինթեզի ուղղությամբ (ուղեղ, երիկամ, կաթնագեղձ)։

INHIBITION OF ARGINASE FROM DIFFERENT RAT ORGANS
BY AMINOACIDS DURING ONTOGENESIS

L. M. ARUTUNJIAN, A. Kh. AGADJANJIAN

The localization of arginase and its activity inhibition by aminoacids in rat different organs have been studied. Liver arginase is localized mainly in the supernatant while enzyme from kidney and mammary gland is found in the supernatant and the precipitate. In rat embryo aminoacids strongly inhibit liver, brain and kidney arginase. L-aminoisobutyric acid does not inhibit the liver arginase but effectively inhibits brain, kidney and mammary gland arginase, i. e. in organs in which arginase functions towards proline biosynthesis.

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., Арутюнян Л. М. Биолог. ж. Армении, 32, 1979.
3. Заробян Т. Я., Агаджанян А. Х., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 29, 44, 1976.
4. Бунятян Г. Х., Давтян М. А. Биохимия, 35, 1970.
5. Archibald R. M. J. Biol. Chem., 1956, 121, 1944.
6. Austic R. E. J. Nutr., 103, 999, 1973.
7. Kaysen C. A., Strecker H. J. Biochem. J., 133, 779, 1973.
8. Mora J., Tarrab R., Bojalil L. F. Biochim. Biophys. Acta., 118, 206, 1966.
9. Ratner S., Pappas A. J. Biol. Chem., 179, 1199, 1949.
10. Rao K. V. K., Reololy S. R. R., Swami K. S. Int. J. Biochem., 4, 62, 1973.
11. Rao K. V. K., Pai S. R., Bapat C. V. Br. J. Cancer, 30, 129, 1974.
12. Reololy S. R. R., Campbell J. W. Biochem. J., 115, 495, 1969.
13. Yip M. C., Knox M. E. Biochem. J., 127, 890, 1972.