

торжения при амилоидозе необходимо учитывать при решении вопроса трансплантации почки больным с амилоидно-сморщенной почкой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян В. М., Еганян Г. А. Иммунология, 6, 40—45, 1982.
2. Арутюнян В. М., Еганян Г. А., Минасян Г. А. Ж. экпер. и клин. медицины, 5, 383—387, 1982.
3. Еганян Г. А., Куликцова О. П. Архив патологии, 4, 44—50, 1977.
4. Мухин Н. А., Викоградова О. М., Серов В. В., Сура В. В., Хасибов Н. И. Терапевтич. архив, 10, 33—39, 1979.
5. Серов В. В., Шанов Н. А. Амилоидоз, М., 1977.
6. Billingham R. E., Medavar P. B. J. Exp. Biol., 20, 385—403, 1951.
7. Cohen A., Helcettl A., Harrington J., Mannick J. Lancet, 7723, 513, 1971.
8. Glenner G. G. Annals, clin. lab. science, 5, 257—263, 1975.
9. Muxry C. P., Wegelius O. Acta med. scand., 215, 289—291, 1984.

Поступило 15.IX 1986 г.

Бюол. ж. Армени, т. 40, № 2, с. 140—141, 1987

УДК 591.1.05

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АКТИВНОСТЕЙ БИОСИНТЕЗА ПРОЛИНА И ИЗОФЕРМЕНТОВ АРГИНАЗЫ В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ КУР

Т. Г. АРУТЮНЯН, С. А. КАРАПЕТЯН, А. Ж. АБРАМЯН, М. А. ДАВТЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии и проблемная лаборатория сравнительной и эволюционной биохимии

Аннотация — Исследована динамика пролинсинтетазной активности печени, почек и мозга в эмбриогенезе кур. Показано, что активность биосинтеза пролина коррелирует с активностью изофермента I, который и, очевидно, функционирует в указанном процессе. Определялось также содержание аргинина и других гуанидиновых соединений в тканях кур в эмбриогенезе.

Անոտայիւն — Ուսումնասիրվել է հափի սաղմի զարգացման ընթացքում լյարդի, երիկամների և ուղեղի պրոլինսինթետազային ակտիվության դինամիկան Զույց է արվել, որ պրոլինի կենսասինթեզի ակտիվությունը կոռելյուստիվ կապի մեջ է ըստվում արդինազայի I իզոֆերմենտի հետ, որը և հաճանարար մասնակցում է վերոհիշյալ կենսասինթեզին նշված օրգաններում որոշվել է նաև արդինինի և այլ գուանիդինային միացությունների պարունակությունը:

Abstract — The dynamics of liver, kidney and brain prolyne synthetase activity in hen embryogenesis has been studied. It has been shown that the activity of prolyne biosynthesis is correlated with isoenzyme I activity, which, obviously, functions in the indicated biosynthesis. Arginine and other guanidine combinations contents in hen tissues during embryogenesis has been determined.

Ключевые слова: эмбриогенез кур, аргиназа, пролин

Роль неуротелической аргиназы в обменных процессах вне механизма нейтрализации аммиака остается далеко не ясной. Однако имеются

данные о возможной функциональной связи пептидных ферментов аргиназы различного происхождения с биосинтезом пролина [1, 11, 13, 15, 16, 18, 21], глутамата [12], полиаминов [19], аргининбогатых гистонов [6], с лимитированием содержания в тканях биологически активных соединений: цитруллин, гуанидиновых соединений, фосфогенов, мочевины [6]. В органах и тканях ряда организмов (молочная железа крысы, мышц, летательные мышцы насекомых, ткани дождевого червя) установлена коррелятивная связь между активностью аргиназы и процессом биосинтеза пролина из аргинина [1, 7, 17, 18, 21]. Такая взаимосвязь определяется потребностями организма в пролине как составного компонента белков молока при лактации, коллагена при регенеративных, пролиферативных процессах и как энергетического субстрата при мышечной деятельности.

Ранее нами было показано [2-4], что ткани куриного эмбриона (печень, почки, мозг) отличаются характерным для того или иного периода развития изoenzymным спектром аргиназы, при этом отмечалось, что только один изoenzym печени, проявляющийся на ранних стадиях развития эмбриона, очевидно, функционирует с остальными ферментами орнитинового цикла, тогда как функции других изoenzymов не связаны с механизмом нейтрализации аммиака. С целью выяснения возможного участия последних в механизме биосинтеза пролина нами была предпринята серия опытов по изучению динамики пролинсинтетазной активности печени, почек и мозга в эмбриогенезе кур. Одновременно в указанных органах определяли содержание аргинина и других гуанидиновых соединений.

Материал и методика. Объектом служил эмбрион кур породы Лесгорн. Исследовали печень, почки и мозг в разные дни (6, 9, 11, 15, 18, 21) эмбриогенеза. Готовили гомогенаты печени—(30%-ный), почек—(10%-ный), мозга—(40%-ный).

Биосинтез пролина. 3 мл инкубационной среды содержали 100 мкм орнитина, 100 мкм α -кетоглутарата, 100 мкм калий-фосфатного буфера (рН 7,6), 1 мкмоль ниацина B_6 и 0,5 мл гомогената. Инкубацию проводили при 37° в течение часа. За это время орнитин под действием орнитин- α -трансаминазы превращается в пирролин-5-карбоксилат, после чего в среду добавляли 4 мкм НАДН и 0,5 мл свежего гомогената. Смесь инкубировали еще 15 мин. Под действием пирролин-5-карбоксилатредуктазы, присутствующей в гомогенатах, пирролин-5-карбоксилат превращается в пролин, который определяли хроматографическим методом [14].

Определение гуанидиновых соединений. К 1 мл исследуемого объекта добавляли по 1 мл 0,1%-ного раствора α -нафталя в 50%-ном этаноле, 10%-ный КОН—1 мл, перемешивали, добавляли 1 мл 5%-ного раствора мочевины и при непрерывном встряхивании быстро приливали 2 мл раствора КОВг (0,64 мл B_2 в 100 мл 5%-ного КОН). Смесь оставляли на 20 мин и измеряли оптическую плотность при 520 нм на СФ-1А. Концентрацию аргинина находили по калибровочному графику [20].

Результаты и обсуждение. Из данных, представленных в табл. 1, видно, что печень, почки и мозг (во все сроки развития куриного эмбриона) обладают активностью ферментов биосинтеза пролина. Можно отметить, что на ранних стадиях развития эмбриона особых различий в биосинтезе пролина в экстрактах исследованных тканей нет, если не считать незначительного превалирования активности его в мозге. Значительные различия наблюдаются перед вылуплением цыпленка. На 21-й день развития наибольшей пролинсинтетазной активностью обла-

Таблица 1. Пролинсинтетазная активность в тканях кур в эмбриогенезе (M±m) — мкмоль пролина на 1 г свежей ткани

| Дни развития | Печень | Почки | Мозг |
|--------------|-------------|-------------|-------------|
| 6 | 9.07±0.004 | | 14.47±0.012 |
| 9 | 9.76±0.008 | 7.77±0.038 | 10.36±0.092 |
| 11 | 10.24±0.041 | 9.32±0.002 | 8.92±0.017 |
| 15 | 10.16±0.026 | 11.86±0.032 | 8.02±0.001 |
| 18 | 12.40±0.052 | 22.12±0.001 | 7.44±0.002 |
| 21 | 17.92±0.018 | 29.30±0.012 | 6.93±0.010 |

дают почки и печень. В частности, в почках с 15-го дня развития активность ферментов биосинтеза пролина в 4 раза выше по сравнению с начальными этапами. В мозговой ткани, наоборот, по мере развития происходит постепенное падение ее, а у вылупившихся цыплят она в 2 раза ниже, чем на начальных этапах развития эмбриона.

Сопоставляя результаты изучения пролинсинтетазной способности указанных тканей с данными об изоэнзимном спектре аргиназы, полученными гельфильтрацией на сефадексе G-100 (рис. 1—3), можно отме-

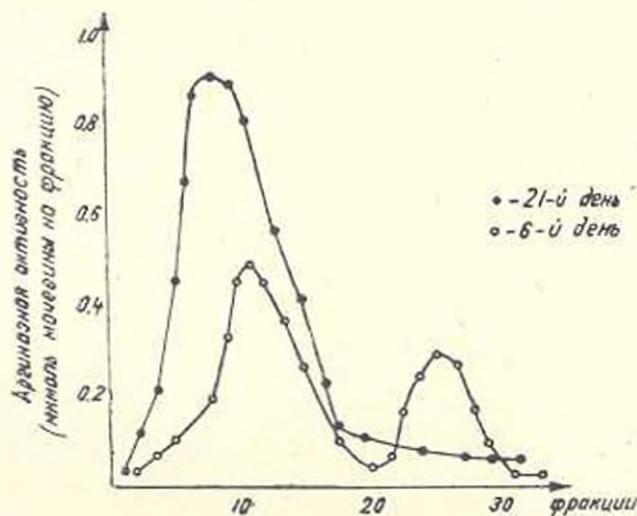


Рис. 1. Изоэнзимный спектр аргиназы печени кур в эмбриогенезе.

тить, что активирование ферментов биосинтеза пролина в печени перед вылуплением цыпленка совпадает со значительным возрастанием активности единственного пика—изоэнзима I. Такая же взаимосвязь между системой биосинтеза пролина и аргиназной активностью наблюдается в почках: значительное возрастание изофермента I, вероятно, направляет аргинин в русло процесса биосинтеза пролина.

Изоэнзимный спектр аргиназы экстракта мозга в эмбриогенезе кур претерпевает изменения в соотношении активностей изоферментов I и II: активность изофермента I по мере развития эмбриона падает приблизительно в 2 раза, в то время как таковая изофермента II повышается.

Таким образом, с повышением активности биосинтеза пролина коррелирует возрастание активности изофермента I, который и, очевидно, функционирует в указанном процессе. Это подтверждается также тем.

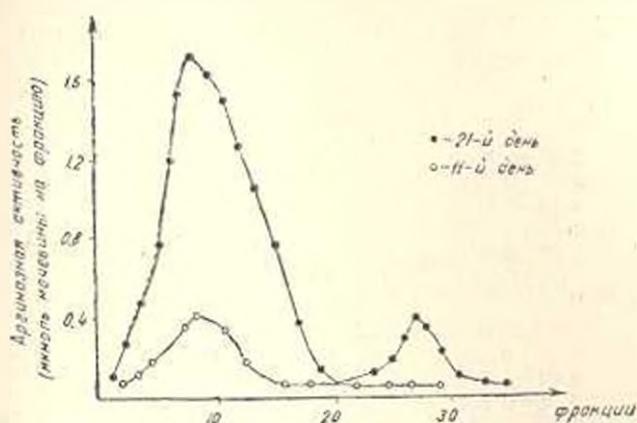


Рис. 2. Изозимный спектр аргиназы почек кур в эмбриогенезе.

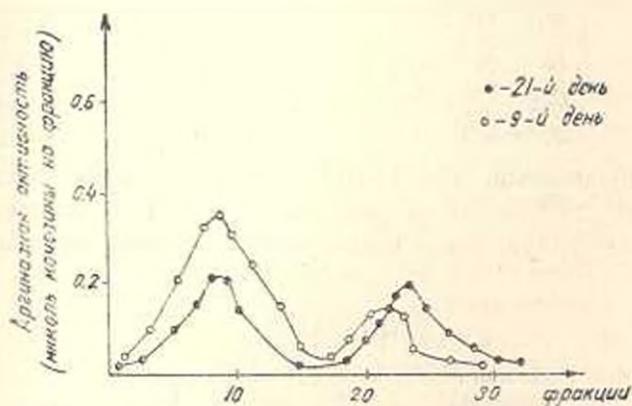


Рис. 3. Изозимный спектр аргиназы мозга кур в эмбриогенезе.

что изофермент I мозга по своим кинетическим свойствам, главным образом значениям K_m и характером ингибирования пролином, близок к изоферменту I печени и почек, функционирующему в направлении биосинтеза пролина [2—4].

В последней серии экспериментов исследовалась динамика содержания аргинина и других односторонних гуанидиновых соединений в различных тканях эмбрионов в процессе развития с целью выявления возможной коррелятивной связи с активностью изоэнзимов аргиназы.

В наших опытах (табл. 2) наблюдался равномерный прирост как аргинина, так и суммарных и остаточных гуанидиновых соединений в гомогенатах печени и почек, в то время как в мозге, наоборот, отмечался спад их.

Таким образом, выявлена корреляция между содержанием гуанидиновых соединений и активностью изофермента I аргиназы во всех указанных тканях. Это можно оценить как дополнительное доказа-

Таблица 2. Содержание однозамещенных гуанидиновых соединений в печени, почках и мозге кур в эмбриогенезе (среднее от 5-ти повторностей), мкмоль на 1 г свежей ткани

| Дни развития | Общие однозамещенные гуанидиновые соединения ($M \pm m$) | Аргинин ($M \pm m$) | Остальные однозамещенные гуанидиновые соединения ($M \pm m$) |
|--------------|--|-----------------------|--|
| Печень | | | |
| 6 | 3.06 \pm 0.013 | 1.97 \pm 0.092 | 1.69 \pm 0.010 |
| 9 | 3.91 \pm 0.019 | 2.29 \pm 0.019 | 1.62 \pm 0.021 |
| 11 | 4.18 \pm 0.001 | 2.72 \pm 0.002 | 1.46 \pm 0.001 |
| 15 | 4.89 \pm 0.031 | 3.60 \pm 0.028 | 1.29 \pm 0.030 |
| 18 | 5.02 \pm 0.121 | 3.83 \pm 0.098 | 1.19 \pm 0.099 |
| 21 | 7.77 \pm 0.024 | 4.59 \pm 0.012 | 3.18 \pm 0.020 |
| Почки | | | |
| 9 | 5.49 \pm 0.075 | 3.09 \pm 0.068 | 2.40 \pm 0.072 |
| 11 | 6.07 \pm 0.004 | 4.01 \pm 0.005 | 2.06 \pm 0.001 |
| 15 | 7.05 \pm 0.012 | 4.24 \pm 0.022 | 2.81 \pm 0.016 |
| 18 | 7.80 \pm 0.075 | 4.70 \pm 0.070 | 3.10 \pm 0.070 |
| 21 | 11.75 \pm 0.027 | 7.15 \pm 0.021 | 4.60 \pm 0.019 |
| Мозг | | | |
| 6 | 6.61 \pm 0.112 | 2.44 \pm 0.092 | 4.17 \pm 0.089 |
| 9 | 6.27 \pm 0.019 | 2.38 \pm 0.009 | 3.89 \pm 0.015 |
| 11 | 5.68 \pm 0.046 | 2.15 \pm 0.055 | 3.53 \pm 0.039 |
| 15 | 4.96 \pm 0.001 | 1.98 \pm 0.002 | 2.98 \pm 0.010 |
| 18 | 4.50 \pm 0.021 | 1.81 \pm 0.028 | 2.69 \pm 0.028 |
| 21 | 4.35 \pm 0.002 | 1.75 \pm 0.001 | 2.60 \pm 0.001 |

тельство анаболической роли этого изофермента, обеспечивающего расход аргинина для биосинтеза пролина, не атакуя аргинин и другие однозамещенные гуанидиновые соединения в определенных компартаментах клетки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А. Х., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 27, 5, 1971.
2. Арутюнян Т. Г., Карапетян С. А., Джакуджян Н. Дж. Биолог. ж. Армении, 34, 1, 1981.
3. Арутюнян Т. Г., Карапетян С. А., Байков В. А. Биолог. ж. Армении, 34, 8, 1981.
4. Арутюнян Т. Г., Карапетян С. А., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 35, 2, 1982.
5. Гершеневич Э. С., Кричоская А. А., Агафонова И. М. Тез. докл. VII Междунар. биохим. конгр., 1029, Токио, 1967.
6. Давтян М. А. Вопросы биохимии мозга, 4, Ереван, 1968.
7. Давтян М. А., Агаджанян А. Х., Гаспарян Х. Г. Биолог. ж. Армении, 35, 8, 1982.
8. Давтян М. А., Арутюнян Т. Г., Хачатрян М. А. Межвузовск. сб. науч. тр., 2, 1982.
9. Мартинсон Э. Ж., Тяхепильд Л. И. Биохимия, 26, 984, 1961.
10. Рольник В. В. Биология эмбрионального развития птиц, Л., 1968.
11. Austic R. E. J. Nutr., 103, 999, 1973.
12. Camper H., Moses V. Biochim. Biophys. Acta, 31, 75, 1971.
13. Hill D. L., Chambers P. I. Cell. Physiol., 69, 321, 1967.
14. Hrabetova, Turp J. Chromatogr., 3, 2, 199, 1960.
15. Kesava R. R., Pal S. R., Rapal C. V. J. Cancer, 30, 12, 1974.
16. Mephan T. B., Linzell J. L. Nature, 214, 507, 1967.
17. Mezl R., Knox E. J. B. C., 248, 5785, 1973.
18. Riddy S. R., Campbell J. N. Biochem. J. 115, 495, 3, 1969.
19. Russel D. H., Mc Vicker T. A. Biochem. J., 154, 105, 1977.
20. Tomlinson V. Anal. Biochem., 60, 1, 1974.
21. Jip C. M., Knox E. W. Biochem. J., 127, 893—899, 1972.

Поступило 3.10.1985 г.