

Биол. журн. Армении, 1-2 (56), 2004

УДК 591.1.05

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ АРГИНАЗЫ В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ САЗАНА *CYPRINUS CARPIO L.*

А.Х. АГАДЖАНЯН, З.С. МИНАСЯН, А.А. ЗАХАРЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, 375049

Исследовали регуляцию активности аргиназы в различных органах сазана. Выявлено, что аргиназная активность наиболее высокая в почках и превышает такую печени в четыре раза. Активность аргиназы всех органов самок примерно в пять раз выше, чем в соответствующих органах самцов. Активность фермента всех органов рыб подавляется орнитином, лизином, пролином и валином, причем наиболее эффективно в печени и жабрах. Ингибирование аргиназы пролином свидетельствует о ее функционировании в процессе биосинтеза пролина. Ионы Cd^{2+} подавляют аргиназную активность в почках и в жабрах. Значение K_i аргиназы печени примерно на один порядок меньше по сравнению с K_i аргиназы почек.

Ասուճնճսիրճել է ծծծանի տարբեր օրգանիզմներում արգինազի ակտիվության կարգավորումը: Բացահայտվել է, որ արգինազային ակտիվությունն առավել բարձր է երիկամներում և գերազանցում է յարդի արգինազային ակտիվությանը չորս անգամ: Էգերի բոլոր օրգանների արգինազային ակտիվությունը հինգ անգամ գերազանցում է արուների համապատասխան օրգանների արգինազային ակտիվությանը: Չկան բոլոր օրգաններում ֆերմենտի ակտիվությունը ճնշվում է օրնիտինով, լիզինով, արոլինով և վալինով: Ինհիբիցիան առավել էֆեկտիվ է ընթանում յարդում և խոիկներում: Պրոլինով արգինազի հնհիբիցիան վկայում է պրոլինի կենսասինթեզի պրոցեսում դրա մասնակցության մասին: Երիկամներում և խոիկներում Cd^{2+} իոնները ճնշում են արգինազային ակտիվությունը: Լյարդի արգինազի K_i -ի արժեքները մոտ 10 անգամ ցածր են երիկամների արգինազի համեմատությամբ:

Arginase activity is higher in the kidney of common carp. It is four times more than arginase activity of the liver. Arginase activity in all organs of the female is five times more than those in the corresponding organs of the male. Ornithine, lysine, proline and valine depress enzyme activity. Inhibition is more effective in the liver and gills. Inhibition of arginase by proline shows his functioning in the process of proline biosynthesis. Cd^{2+} ions increase arginase activity in the kidney and in the gills. K_i of liver arginase activity is about ten times lower in comparison with K_i of the kidney arginase.

Аргиназа - регулирование активности - пролин - сазан.

Регуляция аргиназной активности может осуществляться при участии ряда соединений, которые выполняют роль положительных или отрицательных модуляторов.

Согласно данным Хунтера и Даунса [6], орнитин и лизин являются конкурентными ингибиторами, в то время как остальные аминокислоты проявляют смешанный тип ингибирования. Имеются подробные исследования по ингибированию аргиназы печени овцы аминокислотами [8].

По Газировской и сотр. [5], изофермент аргиназа A_1 конкурентно

ингибируется орнитинном в печени, слюнной железе и мозге, а в почках это ингибирование носит смешанный характер.

Изоэнзимы A_3 в печени и A_2 в слюнной железе также ингибируются конкурентно. Особый интерес представляет ингибирование аргиназы пролином. Пролин ингибирует активность аргиназы опухолей молочной железы мышей, что может играть регулируемую роль в механизме метаболизма этих опухолей [9]. Неконкурентный характер ингибирования обнаружен у инфузорий, у лактирующих крыс в молочной железе, фасолевой зерновки и др. [1].

Campbell [4] отмечает активирование аргиназы печени крыс двухвалентными ионами Cd^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , но не Co^{2+} . По данным же Кейсона и Штрекера [7], аргиназа почек активируется ионами Mn^{2+} , Mg^{2+} , в то время как Fe^{2+} , Hg^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} уменьшают активность фермента.

Настоящая работа посвящена изучению некоторых регуляторных возможностей аргиназы в различных органах сазана.

Материал и методика. Объектом исследований служила рыба сазан (*Cyprinus carpio*) массой 1-1.5 кг. Аргиназную активность определяли методами Ратнера [10] с небольшими изменениями, мочевины - методом Арчибальда [3]. Гель-фильтрацию проводили на колодке с сефадексом G-150. Константу Михаэлиса (K_m) определяли графическим методом Лайнуивера-Бэрка, константу ингибирования - по методу Диксона.

Результаты обсуждения. Изучали активность аргиназы в разных органах сазана (табл. 1).

Таблица 1. Активность аргиназы в разных органах сазана

Органы	Активность фермента, 1мкМ/г свежей ткани	
	Самец	Самка
Почка	54.72 ± 3.4	155.4 ± 6.1
Печень	13.68 ± 0.8	60.7 ± 3.5
Сердце	10.64 ± 0.9	30.2 ± 2.8
Жабры	9.12 ± 0.8	28.3 ± 2.4
Мозг	15.2 ± 1.1	

Выявлено, что активность аргиназы в большей степени проявляется в почках, по сравнению с другими органами, и примерно в 4 раза превосходит таковую в печени. Интересно отметить, что у рыб активность аргиназы в мозге выше, чем в печени. Активность аргиназы всех органов самок превосходит таковую соответствующих органов самцов в 3-4 раза. Это может быть обусловлено половым диморфизмом и откладыванием яиц.

Изучали влияние некоторых аминокислот на активность аргиназы сазана (табл. 2).

Согласно таблице, все изученные нами аминокислоты подавляют активность аргиназы всех органов, но в меньшей степени в печени и жабрах. Наибольшим ингибиторным эффектом обладает орнитин. Подавление активности аргиназы пролином является доказательством того, что неуротелические организмы участвуют в процессе биосинтеза пролина [2].

Таблица 2. Влияние некоторых аминокислот на активность аргиназы сазана, $\mu\text{мМ/г}$ свежей ткани

Органы	Аминокислоты	Активность фермента	Ингибирование, %
Почка	без ингибитора	$64,8 \pm 4,1$	
	Орн	$37,8 \pm 2,6$	41,7
	Лиз	$34,3 \pm 2,4$	47,1
	Про	$51,3 \pm 3,7$	20,8
	Вал	$31,8 \pm 2,0$	50,9
Печень	без ингибитора	$20,7 \pm 2,1$	
	Орн	$16,2 \pm 1,9$	21,7
	Лиз	$15,97 \pm 1,8$	22,9
	Про	$5,13 \pm 2,1$	10,6
	Вал	$3,18 \pm 2,0$	20,8
Сердце	без ингибитора	$12,78 \pm 1,4$	
	Орн	$6,04 \pm 1,1$	52,8
	Лиз	$5,1 \pm 0,8$	59,9
	Про	$11,2 \pm 1,3$	11,8
	Вал	$4,1 \pm 0,9$	67,7
Жабры	без ингибитора	$10,3 \pm 1,2$	
	Орн	$7,9 \pm 0,9$	23,3
	Лиз	$5,9 \pm 0,7$	42,7
	Про	$8,9 \pm 0,9$	13,8
	Вал	$7,9 \pm 0,8$	23,3

Исследовали также влияние некоторых ионов на активность аргиназы сазана (табл. 3).

Таблица 3. Влияние некоторых ионов на активность аргиназы сазана, $\mu\text{мМ/г}$ свежей ткани

Органы	Ионы	Активность фермента	Ингибирование, %
Почка	Mn^{2+}	$62,4 \pm 3,8$	
	Cd^{2+}	$5,8 \pm 0,8$	90,7
	Fe^{2+}	$49,2 \pm 3,1$	21,2
	Fe^{3+}	$8,61 \pm 0,9$	86,2
Сердце	Mn^{2+}	$14,3 \pm 1,4$	
	Cd^{2+}	$14,3 \pm 1,5$	0
	Fe^{2+}	0	100
	Fe^{3+}	$14,3 \pm 1,3$	0
Жабры	Mn^{2+}	$11,7 \pm 1,2$	
	Cd^{2+}	0	100
	Fe^{2+}	$4,3 \pm 0,2$	63,3
	Fe^{3+}	$15,5 \pm 1,6$	0

Обнаружено, что по сравнению с ионами Mn^{2+} , который является истинным кофактором фермента, ионы Cd^{2+} в почке и жабрах практически

полностью подавляют активность аргиназы, ионы Cd^{2+} и Fe^{3+} не влияют на активность аргиназы в сердце, но повышают ее в жабрах. Существенно различают влияние двухвалентных и трехвалентных ионов на активность аргиназы. Двухвалентные ионы по сравнению с трехвалентными (86%) очень слабо ингибируют ее в почках (21%).

При гель-фильтрации экстрактов почек и печени сазана обнаружены по два изоэнзима аргиназы и три белковых пика (рис. 1, 2). Активность изоэнзима почек значительно уступает таковой II изоэнзима, а в печени обнаруживается обратная картина. Были изучены Km для двух изоэнзимов аргиназы (табл. 4).

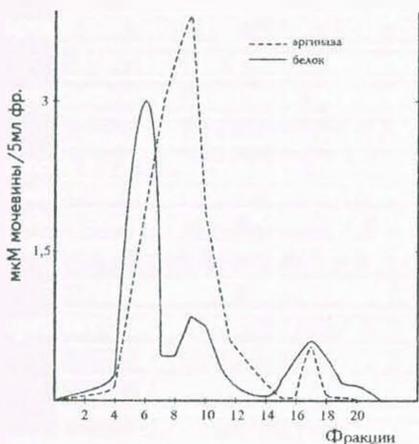


Рис. 1. Изоэнзимы аргиназы печени сазана.

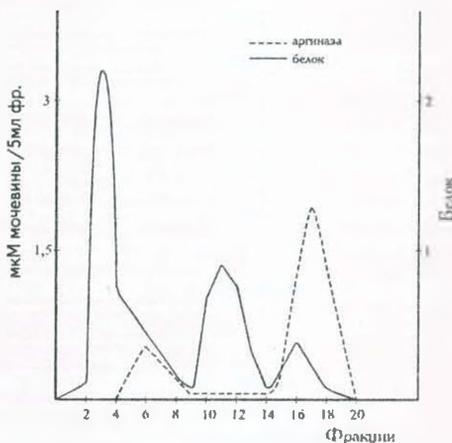


Рис. 2. Изоэнзимы аргиназы почек сазана.

Данные показывают, что все изоэнзимы аргиназы имеют высокие сродства к субстрату. Были проведены исследования по определению константы ингибирования (K_i). Однако из-за низкой активности изоэнзима I аргиназы почек и изоэнзима II аргиназы печени определить ее было невозможно.

Таблица 4. Константа Михаэлиса изоэнзимов аргиназы разных органов сазана, мМ

Органы	Изоэнзимы	
	I	II
Почки	0,25	0,28
Печень	0,029	1,2

Таблица 5. Характер ингибирования изоэнзимов аргиназы печени и почек сазана

Органы	Аминокислоты	K_i , мМ	Характер ингибирования
Почки II изоэнзим	лизин	0,33	конкурентный
	валин	0,11	конкурентный
Печень I изоэнзим	лизин	0,024	неконкурентный
	валин	0,021	неконкурентный

Из данных табл. 5 видно, что лизин по сравнению с валином более сильный ингибитор. Интересен тот факт, что значения K_i аргиназы печени на один порядок меньше по сравнению с значениями K_i аргиназы почек. Что касается характера ингибирования, то ингибирование аргиназы печени валином и лизином является неконкурентным, в то время как ингибирование аргиназы почек в обоих случаях является конкурентным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А.Х. Докт. дисс., Ереван, 1990.
2. Давтян М.А., Агаджанян А.Х. Биолог. журн. Армении. 35, 8, 631-636, 1982.
3. Archibald R.M. J. Biol. Chem., 156, 121-142, 1944.
4. Campbell J.W. J. Biochem. Physiol., 18, 179-199, 1966.
5. Gasirowska I., Porembaska Z., Jachimowicz J., Mochnacka I. J. Biochem., 17 19-30, 1970.
6. Hunter A., Downs C.E. J. Biol. Chem., 157, 427-446, 1945.
7. Kaysen G.A., Strecker H.J. J. Biochem., 133, 779-788, 1973.
8. Kesava Rao K.V., Reddy S.R.R., Swami K.S. J. Biochem., 4, 62-70, 1973.
9. Kesava Rao K.V., Pai S.R., Bapat C.V. J. Cancer, 30, 129-135, 1974.
10. Ratner S., Pappas A. J. Biol. Chem., 179, 1183-1198, 1949.

Поступила 16.IV.2001