

УДК 577.157.611.61

БИОХИМИЯ

В. С. Оганесян, Л. Л. Бадалян

**Новый ингибитор гамма-глутамилтрансферазы коры почек крыс**

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятяном 4/XI 1980)

$\gamma$ -глутамилтрансфераза (ГГТФ) занимает ключевую позицию в метаболизме глутатиона и родственных ему соединений. Это мембраносвязанный фермент, выполняющий в организме несколько функций. Одной из основных его функций является транспептидирование, т. е. реакция переноса  $\gamma$ -глутамильного остатка с глутатиона на аминокислоты и пептиды. ГГТФ обладает широкой субстратной специфичностью по отношению как к донорам, так и к акцепторам (<sup>1-3</sup>). Она осуществляет и реакцию ауотранспептидирования. В этом случае донор  $\gamma$ -глутамильного остатка служит и его акцептором (<sup>4</sup>). Характерной реакцией для ГГТФ является также гидролиз глутатиона и других  $\gamma$ -глутамильных соединений (<sup>4</sup>). В определенных условиях этот фермент катализирует и реакцию образования  $\gamma$ -глутамилгидроксиамата (<sup>2,4</sup>). Превращение глутатиона в глутатион-дисульфид также может осуществляться ГГТФ (<sup>5</sup>). Кроме того, ГГТФ обладает и слабо выраженной глутаминазной активностью (2% от активности ГГТФ). Однако в присутствии малеата глутаминазная активность возрастает более чем в 10 раз (<sup>4, 6, 7</sup>). Изучение этого фермента показало, что известная ранее фосфатнезависимая (ФНГ), стимулируемая только малеатом, является ГГТФ (<sup>4, 6-8</sup>).

Следует отметить, что малеат активировал и фосфатзависимую глутаминазу (ФЗГ), которая стимулируется целым рядом низкомолекулярных соединений различной природы (<sup>8-11</sup>). Среди множества эффекторов, стимулирующих активность ФЗГ мозга и почек, особое место занимают тиреоидные гормоны (ТГ) (<sup>10-13</sup>). Их действие по ряду параметров отличается от действия других эффекторов. ТГ, являясь аллостерическими эффекторами глутаминазы, вступают в положительное кооперативное взаимодействие со многими активаторами глутаминазы мозга и почек. В то же время трийодотиронин (Т<sub>3</sub>) и его производные сильно подавляют активность глутаминазы печени (<sup>14</sup>).

В свете вышесказанного представляло интерес изучить влияние ТГ и их производных на глутаминазную активность и другие каталитические проявления ГГТФ коры почек крыс.

Гидролазную и транспептидазную активности ГГТФ исследовали в различных субклеточных фракциях (ядра, митохондрии, микросомы, цитоплазма), полученных дифференциальным центрифугированием гомогената коры почек крыс. В качестве донора-субстрата использовали L- $\gamma$ -глутамил-p-нитроанилид.

При изучении действия гормонов щитовидной железы и их дериватов на гидролазную активность ГГТФ было обнаружено, что указанные соединения в различной степени ингибируют ее активность. Тироксин ( $T_4$ ) и  $T_3$ , взятые в концентрации  $10^{-4}$ М, оказывают слабое ингибирующее действие (15—20%), а дийодотиронин ( $T_2$ ) при той же концентрации не эффективен. Наиболее сильным ингибитором среди указанных соединений оказалась трийодотиреоуксусная кислота ( $T_3$ УК). Сравнительно высокие концентрации этого соединения ( $5 \cdot 10^{-5}$ М) подавляют гидролазную активность фермента на 90%. При концентрации  $T_3$ УК— $4 \cdot 10^{-6}$ М происходит 50%-ное ингибирование максимальной активности фермента, а концентрации указанного соединения, близкие к физиологическим, приводят к 15%-ному торможению его активности. Трийодотиреопропионовая кислота ( $T_3$ ПК) ингибирует гидролазную активность ГГТФ сильнее, чем  $T_4$  и  $T_3$ , но уступает по эффективности  $T_3$ УК.

Влияние ТГ на транспептидазную активность ГГТФ изучали в присутствии акцепторов глицил-глицина, глутамина и метионина. Оказалось, что достаточно высокие концентрации  $T_4$ ,  $T_3$  и  $T_2$  ( $10^{-4}$ М) не подавляют транспептидазную активность фермента. Между тем, как  $T_3$ УК ( $2,5 \cdot 10^{-6}$ М) эффективно ингибирует реакцию транспептидирования с участием как глицил-глицина, так и метионина и глутамина. Однако при применении концентрации, близкой к физиологической ( $5 \cdot 10^{-7}$ М), она не эффективна. Ингибирующее действие  $T_3$ ПК проявляется слабее, и то при высоких ее концентрациях ( $10^{-4}$ М).

Нами установлено, что цитоплазма почечной ткани обладает слабой ГГТФ-ной активностью, которая под действием  $T_3$ УК также подавляется.

В регуляции активности ГГТФ малеат занимает особое место. Он стимулирует процесс гидролиза  $\gamma$ -глутамильных соединений и перенос  $\gamma$ -глутамильного остатка глутамина и в то же время подавляет реакцию транспептидирования с участием глутатиона. По мнению Майстера и Томпсона действие малеата обусловлено связыванием его с акцепторным участком активного центра фермента (<sup>15</sup>).

Изучение действия тиреоидных соединений на активность ГГТФ в присутствии малеата показало, что хотя и малеат стимулирует гидролиз L- $\gamma$ -глутамил-p-нитроанилида, однако он не препятствует ингибирующему влиянию  $T_3$ УК. Кроме того выяснилось, что на фоне ингибирующего действия малеата  $T_3$ УК продолжает тормозить транспептидазную активность фермента.

Глутаминазную активность ГГТФ изучали, в основном, в микросомальной фракции. Как выяснилось,  $T_3$ УК по-разному действует на глутаминазную активность фермента. В присутствии

малеата, который многократно превышает активность фермента, T<sub>3</sub>УК оказывает тормозящее действие. Примечательно, что в отсутствие малеата T<sub>3</sub>УК не подавляет глутаминовую активность, а высокие ее концентрации даже слабо стимулируют. Выяснение механизма действия T<sub>3</sub>УК может быть полезным в уточнении карты донорного и акцепторного участков активного центра фермента.

Следует отметить, что кроме малеата активность ГГТФ подавляется и такими неприродными соединениями, как  $\gamma$ -глутамилгидразоны  $\alpha$ -кетокислот, серин в сочетании с боратом и производные сульфопфталеина (<sup>3</sup>). В отличие от указанных веществ T<sub>3</sub>УК как природное соединение, влияя на активность ГГТФ, может регулировать скорость реакций гидролиза и транспептидирования таких важных для организма соединений, как глутатион и глутамин.

В настоящее время отсутствует единое мнение о роли, выполняемой ГГТФ в организме животных. Обнаружение такого сильного ингибитора может быть полезным для выяснения физиологической роли этого фермента в жизнедеятельности организма.

Институт биохимии  
Академии наук Армянской ССР

Վ. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Լ. Լ. ԲԱԿԱԼՅԱՆ

### Առնետների երկամների կեղևի $\gamma$ -գլուտամիլտրանսֆերազայի նոր ինհիբիտորը

Առնետների երկամների կեղևի սուբբջջային ֆրակցիաներում  $\gamma$ -գլուտամիլտրանսֆերազայի տարբեր կատալիտիկ ֆունկցիաների վրա թիրեոիդ հորմոնների և նրանց ածանցյալների ազդեցության ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ 3-յոդթիրեոբացախաթթուն հանդիսանում է  $\gamma$ -գլուտամիլտրանսֆերազայի ուժեղ ինհիբիտոր և որպես բնական միացություն այն կարող է կարգավորել օրգանիզմի համար կարևոր այնպիսի միացությունների հիդրոլիզը և տրանսպեպտիդացումը, ինչպիսիք են գլուտատիոնը և գլուտամինը:

### ЛИТЕРАТУРА—ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- <sup>1</sup> C. S. Hanes, E. J. Hird, F. A. Isherwood, Biochem. J., vol. 51, 25 (1952). <sup>2</sup> S. S. Tate, A. Meister, J. Biol. Chem., vol. 249, № 23, 7593 (1974). <sup>3</sup> A. Meister, S. S. Tate, Annual Rev. Biochem., vol. 45, 559 (1976). <sup>4</sup> S. S. Tate, A. Meister, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, vol. 71, 3329 (1974). <sup>5</sup> S. S. Tate, J. Orlando, J. Biol. Chem., vol. 254, № 13, 5573 (1979). <sup>6</sup> S. S. Tate, A. Meister, J. Biol. Chem., vol. 250, № 12, 4619 (1975). <sup>7</sup> N. P. Curihoy, T. Kuhlenschmidt, J. Biol. Chem., vol. 250, № 6, 2099 (1975). <sup>8</sup> N. Katsunuma, T. Katsunuma, T. Towatari, a. o., in: The Enzymes of Glutamine Metabolism (Prusiner S., Stadtman E. R., eds), Acad. Press, New York, 1973.

<sup>9</sup> E. Kватте, I. Аа. Torgner, Biochem. J., vol. 149, № 1, 83 (1975). <sup>10</sup> В. С. Оганесян, Г. Х. Бунятян, К. С. Микиртумова и др., Вопросы биохимии мозга, вып. 6, Изд. АН АрмССР, Ереван (1970). <sup>11</sup> В. С. Оганесян, Л. Л. Бадалян, К. С. Микиртумова и др., Вопросы биохимии мозга, вып. 8, Изд. АН АрмССР, Ереван (1973). <sup>12</sup> В. С. Оганесян, К. С. Микиртумова, Г. Х. Бунятян, Вопросы биохимии мозга, вып. 12, Изд. АН АрмССР, Ереван (1977). <sup>13</sup> В. С. Оганесян, Ж. Дж. Саакян, Р. Л. Айрапетян и др., Биологический журн. Армении, т. 33, № 9 (1980). <sup>14</sup> В. С. Оганесян, В. Г. Амбарцумян, Биологический журн. Армении, т. 32, № 5 (1979). <sup>15</sup> G. A. Thompson, A. Meister, J. Biol. Chem., vol. 254, № 8, 2956 (1979).