

Г. Т. АДУНЦ, Л. В. САРКИСЯН

СДВИГИ В АКТИВНОСТИ НЕОРГАНИЧЕСКОЙ ПИРО- ФОСФАТАЗЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ

Исследовалась активность неорганической пирофосфатазы в печени, почках, слизистой оболочке тонких кишок белых крыс под действием ПХМБ, МИУК, цинка, цистеина и ЭДТА.

Полученные данные свидетельствуют об одинаковом характере изменения активности пирофосфатазы печени и почек белых крыс под влиянием указанных реагентов и противоположном эффекте их в слизистой оболочке тонких кишок, что дает возможность сделать вывод об изоэнзимном характере пирофосфатаз в этих тканях.

Рядом исследователей [1] показано, что при воздействии на неорганическую пирофосфатазу (КФ 3.6.1.1), выделенную из печени крыс, веществами, блокирующими сульфгидрильные группы, угнетается ее активность. Угнетение вызывают также кислород [12], ионы ртути, меди, железа [4, 9, 11], кальция [2], парахлормеркурибензоат [6, 15], окисленный глутатион [13], арсенат [10], аллоксан, йодацетат и карбамид [14]. Такое же предположение высказал Наганна [8] в отношении пирофосфатазы эритроцитов.

Все эти авторы уделяют большое внимание деятельности SH-групп, которые играют важную роль как в проявлении активности фермента, так и в ее регуляции.

Указанные исследования касаются лишь печени крыс и эритроцитов, остальные же органы в этом отношении мало или вовсе не изучены.

Нами изучалась активность неорганической пирофосфатазы печени, почек, слизистой оболочки тонких кишок белых крыс под действием некоторых реагентов, в частности тиоловых агентов парахлормеркурибензоата (ПХМБ), монойодуксусной кислоты (МИУК), а также этилендиаминтетраацетата (ЭДТА), цистеина и цинка.

Материал и методика. Активность неорганической пирофосфатазы определяли по Геппелю [5], неорганический фосфор — по методу Лоури и Лопеса [7]. Активность фермента выражали в мг фосфора, отщепившегося от пирофосфата, на один грамм свежей ткани за час инкубации при 37°. Колориметрирование проводили на ФЭК-М красным фильтром (длина волны 650 мμ).

Результаты и обсуждение. Полученные данные показали, что печеночная ткань обладает наиболее низкой пирофосфатазной активностью, слизистая оболочка тонких кишок — наивысшей, среднее положение занимает фермент из почек.

Данные таблицы свидетельствуют о том, что большие концентрации ПХМБ резко подавляют активность пирофосфатазы в тканях печени и почек белых крыс, низкие же или слабо ингибируют ее, или вовсе не влияют. Интересно, что ни одна из концентраций ПХМБ не оказывает какого-либо влияния на активность пирофосфатазы слизистой оболочки тонких кишок (табл. 1).

Аналогичный, но более слабый эффект оказывает МЙУК. В концентрациях 10^{-2} — 10^{-6} М она незначительно снижает активность пирофосфатазы в печени. Некоторая тенденция к снижению активности фермента отмечается в почечной ткани, еще более незначительная — в слизистой оболочке тонких кишок, как и в случае с ПХМБ, в указанных концентрациях. Наблюдавшиеся небольшие изменения в активности фермента в слизистой оболочке тонких кишок статистически недостоверны. В подобных случаях фермент из слизистой оболочки тонких кишок можно отнести к ферментам, не носящим тиолового характера, поэтому реагенты ПХМБ и МЙУК в любой концентрации не влияют на активность данного фермента.

Учитывая биологическую роль цинка в метаболизме и его участие в организации некоторых ферментативных систем, в частности щелочных фосфатаз, представляло интерес изучение его роли в пирофосфатазной активности печени, почек и слизистой оболочки тонких кишок белых крыс.

Использование различных концентраций цинка (10^{-2} — 10^{-6} М) показало, что в концентрации 10^{-2} М он оказывает резкое ингибирующее действие на этот показатель печени и почек. С уменьшением концентрации до 10^{-3} — 10^{-4} М отмечается слабое ингибирование активности фермента в этих тканях, а при малых его количествах (10^{-5} — 10^{-6} М) не удается выявить заметных изменений. В слизистой оболочке тонких кишок наблюдается лишь некоторая тенденция к понижению активности при высоких концентрациях (10^{-2} , 10^{-3} М), на 16 и 8% соответственно, и, наоборот, к повышению при малых количествах (10^{-4} — 10^{-6} М) (табл. 2).

Некоторым авторам [3] удалось снять ингибированное состояние фермента, достигнутое действием кислорода, с помощью цистеина. Основываясь на этих данных, мы исследовали непосредственное действие различных концентраций цистеина на пирофосфатазную активность у белых крыс. Оказалось, что цистеин в концентрациях 10^{-2} — 10^{-6} М подавляет пирофосфатазную активность печени, особенно в концентрации 10^{-3} М. В почечной ткани подавляющее действие цистеина несколько выше, чем в печени, при этом в концентрации 10^{-2} М он снижает активность фермента на 32%, при 10^{-3} М — на 34%. В дальнейшем параллельно с уменьшением концентрации цистеина ферментативная активность в почках несколько повышается и при концентрации 10^{-6} М приравнивается к исходной величине. Полученные данные свидетельствуют о том, что цистеин в концентрациях 10^{-2} — 10^{-6} М не вызывает существенных

изменений в активности пирофосфатазы слизистой оболочки тонких кишок.

Таким образом, результаты исследований показали, что высокие концентрации цистеина подавляют пирофосфатазную активность почек, малые же не играют существенной роли в деятельности фермента. В слизистой оболочке тонких кишок, наоборот, большие концентрации в некоторой степени активируют фермент, малые же оказывают противоположное действие.

По данным Сомерса и Самнера [14], очищенная пирофосфатаза из мозга свиньи с оптимумом pH 7,6—7,8 активируется ЭДТА, цистеином, глутатионом и тиогликолевой кислотой. Кроме того, известно также, что ЭДТА является ингибитором тех ферментов, которые активируются двухвалентными металлами.

В последующих наших исследованиях было интересно выяснить, существует ли связь между активностью пирофосфатазы и металлблокирующим соединением — ЭДТА. Наши исследования, проведенные в этом направлении, показали, что различные концентрации ЭДТА по-разному влияют на активность пирофосфатазы печени, почек и слизистой оболочки тонких кишок белых крыс. Если в концентрации 10^{-2} М ЭДТА резко повышает активность фермента почечной и печеночной тканей, то в слизистой оболочке тонких кишок при тех же условиях отмечается сильно выраженное падение ее (табл. 3). При уменьшении концентрации ЭДТА (10^{-3} , 10^{-1} , 10^{-5} М) особых сдвигов в ферментативной активности в печеночной ткани не отмечается и лишь некоторое ее падение по сравнению с контролем наблюдается в почечной ткани. ЭДТА в количестве 10^{-6} М на активность фермента не оказывает никакого влияния в обеих тканях. В слизистой оболочке тонких кишок параллельно с уменьшением концентрации ЭДТА пирофосфатазная активность повышается и доходит до исходной при концентрации 10^{-6} М.

Как видно из приведенных данных, характер изменения активности пирофосфатаз под влиянием примененных реагентов (ПХМБ, МПУК, цистеина и цинка) в печени и почках белых крыс очень сходен и отличается от такового в слизистой оболочке тонких кишок, где активность фермента изменяется в прямо противоположном направлении. Указанное дает возможность сделать вывод об изоэнзимном характере пирофосфатаз этих тканей.

Механизм же действия ЭДТА сводится, по-видимому, к связыванию ионов двухвалентных металлов, что приводит к снижению активности фермента. Кажущийся парадоксальным факт повышения активности фермента под влиянием ЭДТА обусловлен, вероятно, концентрацией металла в среде. Интересно, что малые концентрации одного и того же металла могут усиливать деятельность фермента, а большие, наоборот, подавлять. Если в реакционной среде имеются большие концентрации металла, при добавлении ЭДТА наблюдается повышение ферментативной активности, благодаря снижению концентрации металла до оптимальной. Не исключено, что ЭДТА может связываться с тяжелыми ме-

галлами и таким образом повышать активность фермента. Вероятно, в механизме действия ЭДТА на ферментативную активность существуют и другие пути.

Подобное объяснение можно распространить и на изучаемый нами фермент из слизистой оболочки тонких кишок белых крыс, где наблюдалось резкое снижение активности его при воздействии ЭДТА в концентрации 10^{-2} М, чего не отмечалось в тканях печени и почек.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 16.I 1975 г.

Գ. Թ. ԱԴՈՒՆՑ, Լ. Վ. ՍԱՐԴԻՍՅԱՆ

ԱՆՕՐԴԱՆԱԿԱՆ ՊԻՐՈՖՈՍՖԱՏԱԶԱՅԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆԸ ՏԱՐԲԵՐ ԱԶՂԱԿՆԵՐԻ ԱԶՂԵՑՈՒԹՅԱՆ ՆԵՐՔՈՒ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հետազոտվել է անօրգանական պիրոֆոսֆատազայի ակտիվությունը սպիտակ առնետների լյարդում, երիկամներում, բարակ աղիների լորձաթաղանթներում, պարաբլորմերկուրիբենզոատի, մոնոյոդրացախաթթվի, ցիստեինի և էթիլենդիամինտետրաքաջախաթթվի ազդեցության ներքո:

Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ սպիտակ առնետների լյարդի և երիկամների պիրոֆոսֆատազային ակտիվության փոփոխության բնույթը, նշված ռեագենտների ազդեցության ներքո, միանման են, իսկ բարակ աղիների լորձաթաղանթների պիրոֆոսֆատազային ակտիվությունը խիստ կերպով տարբերվում է լյարդի և երիկամների նույն ֆերմենտի ակտիվության փոփոխությունից: Այդ տվյալները բերում են այն համոզման, որ մենք գործ ունենք առանձին իզոէնզիմների հետ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Томио В., Кейдзо И., Масакадзу Я., Такао В., Тадасигэ М., Нобору И. «Нара ига-ку» дзасси, РЖБХ, 1969.
2. Ханика М. Ю. Вопросы мед. химии, 6, 3, 244, 1960.
3. Gillespie J. T. Austral J. Biol. Sci., 9, 3, 448, 1956.
4. Gordon J. J. Biochem. J., 46, 96, 1950.
5. Heppel L. A., Hilmoe R. J. J. Biol. Chem., 192, 1, 87, 1951.
6. Koshikawa H. J. Fac. Sci. Univ. Tokyo sec. 4, 8, 277, 1958.
7. Lowry O. H., Loper J. A. J. Biol. Chem., 162, 3, 421, 1946.
8. Naganna B., Narayana K., Menon V. K. J. Biol. Chem., 174, 2, 501, 1948.
9. Pathak T. A., Sreenivasan A. Arch. Bioch. Biophys., 59, 2, 366, 1955.
10. Rafter G. W. J. Biol. chem., 230, 643, 1958.
11. Scheuch D., Rapoport S. M. Nature, 186, 4729, 967, 1960.
12. Scheuch D., Rapoport S. M. Acta biol. et med. Germ., 8, 1, 31, 1962.
13. Stevens L. Compat. Biochem, a Physiol., 6, 2, 129, 1962.
14. Summer J., Somers G. Chemistry and Methods of Enzymes, 1948.
15. Uchida K. J. Biochem. 46, 9, 1111, 1959.