

УДК 591.1.05

## ФЕРМЕНТЫ ОРНИТИНОВОГО ЦИКЛА В ПОЧКАХ И МОЗГЕ КУР В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ

Т. Г. АРУТЮНЯН, М. А. ХАЧАТРЯН

Исследовала активность ферментов орнитинового цикла в почках и мозге кур в эмбриогенезе. Показано, что в гомогенатах почек и мозга активность ферментов биосинтеза цитруллина, карбамилфосфатсинтетазы и орнитинтранскарбамилазы не проявляется. На поздних стадиях развития эмбриона и у вылупившихся цыплят проявляется арсенализ цитруллина.

*Ключевые слова:* ферменты орнитинового цикла, куриный эмбрион, почки, мозг.

Согласно современным представлениям [4—6], становление уреотелизма обусловлено интеграцией процесса биосинтеза аргинина с вновь индуцированной специфической аргиназой (уреотелической), которая функционирует независимо от филогенетически более древней аргиназы. Это положение получило экспериментальное обоснование в исследованиях, проведенных на метаморфозирующих организмах [2,7] и развивающихся куриных эмбрионах.

В наших предыдущих работах [8, 1] было показано, что 4- 6-дневные куриные эмбрионы обладают активностью ферментов орнитинового цикла, которые локализованы в печени. С 9-го дня развития активность ферментов биосинтеза цитруллина уже не проявляется. Изучение фильтрационного поведения экстрактов печени, почек и мозга показало, что с исчезновением ферментов биосинтеза цитруллина в печени исчезает один из пиков (изофермент II) аргиназной активности (вероятно, уреотелической природы), в почках, наоборот, на поздних стадиях развития проявляется новый пик (изофермент II), который по молекулярному весу и кинетическим ( $K_m$ ,  $K_i$ ) свойствам сходен с исчезнувшим пиком аргиназной активности печени. Это наводит на мысль об ее уреотелической природе. В экстрактах же мозга гель-фильтрацией выявляются два пика активности во все сроки развития эмбриона. Целью настоящей работы являлось исследование остальных ферментов орнитинового цикла в почках и мозге куриного эмбриона.

*Материал и методика.* Объектом исследований служил эмбрион кур породы леггорн. Эмбрионы получали из Ереванской птицефабрики при МСХ АрмССР. Исследовались почки, мозг эмбриона в разные дни (9, 11, 15, 18, 21) эмбриогенеза. Гомогенизацию проводили в стеклянном гомогенизаторе типа Поттер-Эльведжема с тефлоновым пестиком. Гомогенаты готовились на К-фосфатном буфере (рН 7,4).

Изучение карбамилфосфатсинтетазной и орнитинтранскарбамилазной активностей проводили в условиях опытов, описанных Браунштейном и сотр. [3]. Ткани эмбриона гомогенизировали на холоду в стеклянном гомогенизаторе типа Поттер-Эльведжема в присутствии 0,1 М калий-фосфатного буфера (рН 7,2) из расчета 1 г ткани эмбриона и 1 мл буфера в течение 2 мин при 2500 об/мин. В опытную пробу с конечным объемом 4,5 мл вносили: гомогенат—0,5 мл; АТФ—7 мкмоль;  $MgSO_4$ —35; dl-орни-

тин—40; глутаминовую кислоту—120;  $\text{NH}_4\text{Cl}$ —20;  $\text{NaHCO}_3$ —30 мкмоль; калий-фосфатный буфер—до указанного объема.

Активность орнитинтранскарбамилазы определяли также обратной реакцией, путем арсенολиза цитруллина с последующим определением освобожденного аммиака. Опытная проба с конечным объемом 4,5 мл содержала по 0,5 мл гомогенатов почек или мозга, 1-цитруллин—100 мкмоль; Na-арсенат—500 мкмоль.

Изучение аргининсукцинатсинтетазной и аргининсукциназной активностей проводили по Клюге [9]. В опытную пробу с конечным объемом 4,1 мл вносили: гомогенат—0,5 мл; АТФ—7 мкмоль;  $\text{MgSO}_4$ —10; dl-цитруллин—40; янтарную кислоту—20; аспарагиновую кислоту—20 мкмоль; калий-фосфатный буфер—до указанного объема. Затем смесь инкубировали в течение часа при 37°. Фиксировали 20%-ной ТХУ. Мочевину определяли уреазным методом Зелингсона в модификации Силаковой [10], аргиназную активность—по методу Ратнер, с последующим определением мочевины по Арчбальду [11].

*Результаты и обсуждение.* Исследованные нами ткани куриного эмбриона (печень, почки, мозг) обладают аргиназной активностью. Перед вылуплением активность аргиназы наибольшая в почках (125,74 мкмоль на 1 г свежей ткани), значительно ниже в мозге (15,7 мкмоль) и в печени (13,03 мкмоль). Двухдневный эмбрион обладает лишь орнитинтранскарбамилазной и аргиназной активностями. У 4-дневного эмбриона выявляется активность всех ферментов орнитинового цикла, а в печени указанные ферменты, в том числе ферменты биосинтеза цитруллина, проявляется на 6-й день развития.

У 9-дневного эмбриона мочевинообразовательная функция опадает в результате последовательного исчезновения карбамилфосфатсинтетазы, аргининсукцинатсинтетазы, аргининсукциназы, далее—орнитинтранскарбамилазы.

В приведенной таблице представлены данные о ферментах орнитинового цикла в экстрактах почек и мозга в эмбриогенезе кур (для сравнения приведены и данные, касающиеся печени эмбриона и эмбриона в целом).

Как уже отмечалось, аргиназная активность в изученных тканях выявляется во все сроки развития эмбриона. В почках начиная с 11-го дня развития у цыплят выявляется активность аргининсукцинатсинтетазы, аргиназы и не обнаруживается активности ферментов биосинтеза цитруллина. Однако начиная с 18-го дня развития и у цыплят проявляется положительная реакция арсенολиза, что свидетельствует о наличии орнитинтранскарбамилазной активности.

В гомогенатах мозга, как и в почках, во все сроки развития эмбриона не проявляется активность ферментов биосинтеза цитруллина. Однако у 11- и 15-дневного эмбрионов обнаруживается активность аргининсукцинатсинтетазы и аргининсукциназы, которые в мозге перед вылуплением исчезают и у цыпленка отсутствуют, в то же время в эти сроки развития проявляется арсенолит цитруллина. Следовательно, можно отметить также, что сроки проявления арсенолит в почках совпадают с появлением второго низкомолекулярного пика аргиназной активности.

В литературе есть данные о выраженных орнитинтранскарбамилазной, аргининсукцинатсинтетазной, аргининсукциназной и аргиназной активностях и об отсутствии карбамилфосфатсинтетазной активности в почках цыплят [16]. По мнению ряда авторов, именно поэтому

## Ферменты орнитинового цикла в эмбриогенезе кур

Дни развития	Активность карбамилфосфатсинтетазы и орнитинтранскарбамиллазы, мкмоль мочевины на 1 г свежей ткани	Активность аргининсукцинатсинтетазы и аргининсукциназы, на 1 г свежей ткани по $\text{NH}_3$	Активность аргиназы, мкмоль мочевины на 1 г свежей ткани	Арсенолиз цитруллина, на 1 г свежей ткани по $\text{NH}_3$
Ц е л ь и й э м б р и о н				
2	—	—	86,42±0,936 (5)	20,72±0,433 (5)
4	0,119±0,000	24,45±0,687 (5)	116,20±1,523 (5)	15,58±0,49 (5)
Э м б р и о н б е з п е ч е н и				
6	0,180±0,005 (5)	—	88,16±1,727 (5)	19,1±0,446 (5)
9	—	—	48,56±1,404 (5)	26,0±0,808 (5)
11	—	—	31,6 ±0,454 (5)	26,5±1,05 (5)
16	—	—	17,46±0,489 (5)	8,58±0,68 (5)
П е ч е н ь				
6	0,680±0,01 (5)	79,45±2,07 (7)	79,4 ±1,90 (6)	113,76±2,04 (6)
9	—	—	23,97±1,07 (6)	150,24±2,50 (5)
11	—	—	21,1 ±0,63 (6)	59,32±0,56 (5)
16	—	—	15,8 ±0,47 (6)	36,31±1,41 (5)
18	—	—	13,03±0,54 (5)	36,20±1,68 (5)
П о ч к и				
11	—	58,95±1,43 (6)	87,68±1,45 (6)	—
15	—	39,62±1,15 (5)	120,80±0,79 (5)	—
18	—	25,05±0,58 (5)	91,64±0,96 (5)	41,02±0,628 (5)
Цыпленок	—	21,75±0,46 (5)	125,74±0,85 (5)	60,46±0,760 (5)
М о з г				
9	—	—	16,4 ±0,12 (5)	—
11	—	20,04±0,78 (5)	24,08±0,99 (5)	—
15	—	19,84±0,86 (5)	42,12±0,04 (5)	—
18	—	—	15,5 ±0,1 (5)	27,2±0,55 (5)
Цыпленок	—	—	19,7 ±0,65 (5)	19,8±0,85 (5)

необходимый для зрелых и развивающихся птиц аргинин [13, 15] можно полностью заменить цитруллином, но не орнитином [14, 12, 16]. К этому, исходя из наших данных, можно добавить, что в почках эмбрио-

на кур активность указанных ферментов проявляется неодновремен-  
но. В изученные сроки развития отмечены аргининсукцинатсинтетазная,  
аргининсукцииназная, аргиназная активности, и только перед вылупле-  
нием и у цыплят обнаруживается активность орнитинтранскарамилла-  
зы (арсенолиз цитруллина) на фоне полного отсутствия активности  
карбамилфосфатсинтетазы.

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

Поступило 18.IV 1983 г.

## ՀԱՎԵՐԻ ԷՄԲՐԻՈԳԵՆԵՏԻՎ ԵՐԻԿԱՄՆԵՐԻ ԵՎ ՈՒՂԵՂԻ ՕՐՆԻՏԻՆՏԻՆԱՅԻՆ ՑԻԿԼԻ ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԸ

Տ. Գ. ՀԱՐՈՒՄՅՈՒՆՅԱՆ, Մ. Հ. ԽԱՉԱՏՅԱՆ

Ուսումնասիրվել են հավերի զարգացող սաղմի երիկամների և ուղեղի օր-  
նիտինային ցիկլի ֆերմենտները: Յույց է տրված, որ երիկամների և ուղեղի  
համոգենատներում չեն դրսևորվում ցիտրուլինի բիոսինթեզի ֆերմենտները,  
կարբամիլֆոսֆատսինթետազան և օրնիտինտրանսկարբամիլազան: Հավի  
սաղմի զարգացման ուշ փուլերում և ձվից դուրս եկած ճտերի մոտ դրսևորվում  
է ցիտրուլինի արսենոլիզ:

## ENZYMES OF THE ORNITHINIC CYCLE OF KIDNEYS AND BRAIN IN HENS EMBRYOGENESIS

T. G. HAROUTOUNIAN, M. A. KHACHATRIAN

It has been shown that the activities of the citrulline biosynthesis  
enzymes (carbamyl phosphate synthetase and ornithine transcarbamylase)  
are not displayed in the homogenates of brain and kidneys. In later stages  
of embryogenesis and in newly hatched chickens the arsenolysis of  
citrulline takes place.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арутюнян Т. Г., Карапетян С. А., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 34, 1, 1981.
2. Барсегян Э. Х., Никогосян Ф. Ц., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 25, 6, 1977.
3. Браунштейн А. Е., Северина П. С., Бабская Ю. В. Биохимия, 21, 6, 1956.
4. Давтян М. А., Бунатян Г. Х., Геворкян Д. М., Петросян Л. А. Вопросы биохимии  
мозга. Ереван, 6, 15, 1970.
5. Давтян М. А., Петросян Л. А. Биолог. ж. Армении, 23, 5, 1970.
6. Давтян М. А., Бунатян Г. Х. Биохимия, 35, 412, 1970.
7. Давтян М. А., Арутюнян Т. Г., Хачатрян М. А. Биолог. ж. Армении, 29, 27, 1976.
8. Джикуджян Н. Дж., Арутюнян Т. Г., Хачатрян М. А., Давтян М. А. Межвузовск.  
сб. научн. тр., вып. 1, 1979.
9. Клоге В. И. Докл. АН СССР, 109, 5, 1956.
10. Спидкова А. И., Труш Г. Н., Являкова А. Вопросы мед. химии, 8, 588, 1962.
11. Atchibald R. M. J. Biol. Chem., 156, 121, 1944.
12. Almquist H. J. Federat. Proc., 1, 269, 1942.
13. Klos A. A., Stokatad E. L., Almquist H. J. J. Biol. Chem., 123, 691, 1938.
14. Klos A. A., Almquist H. J. J. Biol. Chem., 135, 153, 1940.
15. Leville G. A., Fischer H. J. Nutr., 69, 289, 1959.
16. Tamir H., Ratner S. Arch. Biochem. Biophys., 102, 249, 1963.