

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича

Архив журнала

## Вопросы медицинской химии

*ISSN 0042-8809*

1985

**Внимание!** Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

## Voprosy meditsinskoj khimii

*ISSN 0042-8809*

1985

**Attention!** OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ XXXI

ВЫПУСК 5

СЕНТЯБРЬ — ОКТЯБРЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ  
МЕДИЦИНСКОЙ  
ХИМИИ



МОСКВА. МЕДИЦИНА. 1985



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. И. МАЗУРОВ (зам. главного редактора), Т. Т. БЕРЕЗОВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ (ответственный секретарь), В. А. САКС, С. Е. СЕВЕРИН, В. Б. СПИРИЧЕВ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)	ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)
БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)	ТАРАҚУЛОВ Я. Х. (Ташкент)
БЫЧКОВ С. М. (Москва)	ТЯХЕПЫЛЬД Л. Я. (Тарту)
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)	УТЕВСКИЙ А. М. (Харьков)
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)	ШАПОТ В. С. (Москва)
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)	ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ПАСХИНА Т. С. (Москва)	ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)

Адрес редакции журнала:

Москва, Солянка, 14

АМН СССР

Тел. 297-16-44

Зав. редакцией Л. А. Фирсова

1983

Д. Г. Навасардянц, С. С. Трапезникова, А. С. Халанский

## АКТИВНОСТЬ ИЗОФОРМ АРГИНАЗЫ МОЗГА В ПЕРИОД РОСТА НЕВРИНОМЫ

НИИ по биологическим испытаниям химических соединений, Купавна

Изучению спектров изоферментов в растущих опухолях придают большое значение, поскольку некоторые изоформы в новообразованиях могут определять важные биохимические процессы, характеризующие особенности обмена опухолевой ткани. Перестройку изоферментного спектра часто наблюдают при почти неизменной суммарной активности фермента [1, 5]. Активность аргиназы является одним из показателей, определяющих скорость роста некоторых опухолей [9, 10]. Однако эти данные неоднозначны, что может объясняться как метаболическим фенотипом опухоли, так и специфическим набором изоформ аргиназы. Для ткани мозга показано участие изоформ аргиназы в образовании целого ряда соединений, необходимых для функционирования нервной ткани, в частности глутаминовой и  $\gamma$ -аминомасляной кислот, ряда гуанидиновых соединений, а также пролина и полиаминов [2, 10, 12]. Данные об изменении активности изоформ аргиназы мозга в период роста опухолей отсутствуют. Однако значение аргиназы при росте опухолей нельзя исключать, поскольку быстро растущие клетки особенно чувствительны к незаменимым аминокислотам, в частности к аргинину.

В данной работе изучали изоферментный спектр аргиназы в ткани мозга крысы в различные периоды роста невриномы Гассерова узла тройничного нерва (штамм 10-13-3).

### Методика

В работе были использованы крысы-самки линии WAG. Крысам трансплантировали в область правого полушария ткань невриномы Гассерова узла тройничного нерва (штамм 10-13-3, пассаж № 9). Для этого при помощи зубного бора производили трепанацию черепа в области правого полушария и в ткань мозга иглой вводили измельченную ткань опухоли в объеме 0,01 мл на глубину 3—5 мм.

С помощью морфологических методов после декапитации животных контролировали рост новообразований в ткани мозга, параллельно проводили биохимические исследования.

Ложная операция включала в себя все этапы повреждения правого полушария (тре-

панацию и прокол иглой) без введения в мозг ткани опухоли. Левое полушарие оставалось неповрежденным во всех случаях. Для выделения изоформ аргиназы ткань мозга каждого полушария гомогенизировали в 0,01 М трис-НСI-буфере рН 7,2, содержащем 25 мМ  $MgCl_2$  [4]. Надосадочную жидкость обессоливали при помощи сефадекса G-25 («Pharmacia»). Для этого полиэтиленовый шприц (2 см<sup>3</sup>) заполняли сефадексом G-25, уравновешенным с 0,01 М трис-НСI-буфером рН 7,2, шприц помещали в полиэтиленовую пробирку и центрифугировали 1 мин при 7500 g [7], после чего на подсушенный сефадекс наносили не более 0,8 мл надосадочной жидкости и снова центрифугировали в тех же условиях, получая таким образом исходный раствор для измерения суммарной активности аргиназы, а также раствор, используемый для получения изоформ аргиназы.

Разделение изоформ аргиназы проводили путем хроматографии надосадочной жидкости на колонке (0,5×1 см) с КМ-сефадексом G-50 («Pharmacia»), уравновешенным указанным буфером.

На колонку наносили 1 мл обессоленного раствора, затем промывали ее 2 мл исходного буфера, получая в смыве фракцию аргиназы, не адсорбированную на КМ-сефадексе, принятую нами за изоформу II. Адсорбированную на КМ-сефадексе фракцию принимали за изоформу I, которую элюировали 2 мл 0,01 М трис-НСI-буфера рН 7,2, содержащего 0,4 М NaCl. Активность аргиназы определяли, как описано ранее [6], белок — по методу Лоури [8].

### Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены результаты определений суммарной активности аргиназы в двух полушариях ткани мозга крысы в норме, в период роста опухоли невриномы, а также после ложной операции правого полушария в самом новообразовании. По нашим данным, рост невриномы сопровождался определенными изменениями суммарной активности аргиназы, главным образом правого пораженного полушария, в то время как ложная операция не влияла на уровень активности фермента. На 1—2-е сутки после трансплантации опухоли невриномы в ткань мозга суммарная активность аргиназы в правом полушарии увеличивалась не более чем в 1,5 раза, однако на 4-е сутки (срок, соответствующий, по морфологическим данным, появлению отдельных опухо-

Суммарная активность аргиназы (в мкмоль/мин/мг) при росте невриномы ( $M \pm m$ )

Операция	Время после операции, сут	Число животных	Полушарие мозга		Новообразование
			интактное	пораженное	
Норма		10	0,023±0,001	—	—
«Ложная»*		9	0,021±0,002	0,021±0,002	—
Трансплантация невриномы	1	3	0,030±0,002	0,025±0,007	—
	2	4	0,028±0,001	0,032±0,008	—
	4	4	0,038±0,005	0,142±0,070	—
	6	5	0,028±0,005	0,045±0,018	—
	7	4	0,028±0,003	0,024±0,003	—
	9	4	0,036±0,001	0,035±0,001	0,027±0,001
	16	4	0,028±0,003	0,027±0,001	0,158±0,050
	20	4	0,019±0,003	0,025±0,001	0,008±0,001
	22	4	0,013±0,003	0,013±0,003	0,011±0,001

\* Колебания активности в течение 6 сут после ложной операции 0,022—0,017 мкмоль/мин/мг.

левых клеток) активность аргиназы возрастала в 6 раз по сравнению с нормой, а в последующие 2 сут резко снижалась; в более поздние сроки роста невриномы активность фермента была ниже нормы.

В левом интактном полушарии изменение суммарной активности аргиназы было также достоверным, но менее выраженным и находилось в соответствии с изменениями активности фермента в пораженном полушарии.

Новообразование можно было дифференцировать от ткани мозга на 9-е сутки после трансплантации. В этот период активность аргиназы в опухоли была такой же, как и в ткани мозга в норме. Однако на 16-е сутки было за-

регистрировано 7-кратное увеличение суммарной активности фермента, в то время как активность аргиназы в ткани обеих полушарий существенно не изменялась.

Параллельно с определением суммарной активности аргиназы в каждом из объектов проводили определение активности изоформ аргиназы, которые получали путем разделения надосадочной фракции гомогената на КМ-сефадексе, идентифицируя положительно и отрицательно заряженные формы фермента (соответственно изоформы I и II).

Как следует из табл. 2, рост невриномы в определенные периоды сопровождался значительным сдвигом в изоэн-

Т а б л и ц а 2

Активность изоформ аргиназ I и II (в мкмоль/мин/мг) в период роста невриномы ( $m \pm \sigma$ )

Операция	Время после операции, сут	Число животных	Интактное полушарие		Пораженное полушарие		Новообразование	
			I	II	I	II	I	II
Норма		10	0,018±0,005	0,012	—	—	—	—
«Ложная»	1	4	0,074±0,007	0,014	0,067±0,007	0,017	—	—
	2	4	0,045±0,010	0,018	0,039±0,009	0,020	—	—
Трансплантация невриномы	6	3	0,014±0,005	0,016	0,018±0,001	0,008	—	—
	1	3	0,064±0,016	0,009	0,055±0,008	0,009	—	—
	2	4	0,013±0,005	0,001	0,011±0,002	0,008	—	—
	4	4	0,052±0,010	0,018	0,277±0,056	0,015	—	—
	6	5	0,040±0,018	0,011	0,183±0,050	0,011	—	—
	7	4	0,022±0,008	0,012	0,031±0,005	0,011	—	—
	9	2	0,034±0,004	0,012	0,040±0,003	0,010	0,098	0,012
	16	4	0,038±0,008	0,015	0,048±0,007	0,018	0,656	0,007
	20	4	0,024±0,005	0,009	0,018±0,006	0,007	0,039	0,006
	22	3	0,016±0,005	0,009	0,015±0,003	0,004	0,016	0,005

зимном спектре аргиназы. Этим изменениям в большей степени была подвержена активность изоформы I, которая реагировала и на механическое повреждение (ложная операция) ткани мозга. Наиболее резкое увеличение активности изоформы I (в 15 раз по сравнению с нормой) наблюдалось в правом полушарии на 4-е сутки после трансплантации опухоли; на 7-е сутки этот показатель снижался и в последующие периоды был близок к норме. В интактном полушарии отмечали увеличение активности изоформы I не более чем в 2—3 раза по сравнению с нормой. Повышенные активности изоформы I в обеих полушариях на 1—2-е сутки после трансплантации опухоли имело место и после ложной операции. По-видимому, это явление было неспецифическим результатом операционного вмешательства.

В новообразовании на 9-е сутки при почти неизменной суммарной активности аргиназы активность изоформы I увеличивалась в 5 раз, а на 16-е сутки — в 36 раз по сравнению с активностью фермента в ткани мозга в норме; в дальнейшем активность изоформы I приближалась к исходному уровню.

Активность изоформы II во всех исследованных объектах имела тенденцию к снижению. Можно полагать, что уровень суммарной активности аргиназы при росте опухолей определяется в основном изменениями активности изоформы I.

Одним из показателей сдвига изоэнимного спектра аргиназы является соотношение удельных активностей изоформ I/II. Так, если в норме в ткани мозга эта величина соответствовала 1,6, то при росте невриномы в период наибольшего увеличения суммарной активности (4-е сутки) эта величина в пораженном полушарии соответствовала 24, тогда как в интактном — только 3. Наиболее резкое изменение удельных активностей изоформ отмечено в самом новообразовании на 16-е сутки, когда активность изоформы I в 93 раза превышала таковую изоформы II. На последних этапах роста невриномы соотношение активностей изоформ как в ткани мозга, так и в новообразовании приближалось к норме.

Таким образом, в различные периоды роста невриномы наблюдалась перестройка изоферментного спектра аргиназы в пораженном полушарии ткани мозга крысы, а также в самом новообра-

зовании на фоне менее выраженных изменений суммарной активности фермента. В интактном полушарии эти изменения носили тот же характер, однако были менее значительными.

Известно, что присутствие аргиназы в ткани мозга не связано с ее участием в биосинтезе мочевины [2]. Орнитин, как продукт аргиназной реакции, является исходным соединением для синтеза полиаминов, известны пути превращения орнитина в пролин, глутаминовую и  $\gamma$ -аминомасляную кислоты. Аргиназа может лимитировать в ткани мозга содержание цитруллина, аргининоянтарной кислоты и однозамещенных гуанидиновых соединений, которые являются необходимыми компонентами нервной ткани [2, 9, 12]. Многообразие функций аргиназы в нервной ткани подтверждается и наличием в тканях мозга двух изоформ фермента. Как показано ранее, изоформы аргиназы мозга по своим свойствам отличаются от изоформ аргиназы печени и других тканей. Использование в качестве ингибиторов металлокомплексов о-фенантролина и некоторых других соединений выявило различия и в свойствах изоформ аргиназы мозга [3]. В опытах *in vitro* было показано, что пролин, глутаминовая и  $\gamma$ -аминомасляная кислоты в зависимости от условий среды по-разному влияют на активность изоформ I и II аргиназы мозга крысы. Все это указывает на различия в регуляции активности изоферментов аргиназы в соответствии с их метаболической функцией. Следует подчеркнуть, что изоформы I и II ткани мозга и новообразования близки по свойствам, о чем свидетельствуют найденные нами значения  $K_M$ . Так, для изоформы I ткани мозга величина  $K_M$  соответствует  $1,7 \cdot 10^{-3}$  М, а для изоформы I опухоли —  $2 \cdot 10^{-3}$  М, для изоформы II соответственно —  $3,8$  и  $4,8 \cdot 10^{-3}$  М. Действие таких соединений, как дитиотриэтол, цистеин, о-фенантролин, также не выявило различий в свойствах изоформ аргиназы ткани мозга и новообразования.

Помимо участия аргиназы в нейтрализации аммиака, в литературе имеются также данные, характеризующие и другие функции отдельных изоформ аргиназы. В частности, показано, что аргиназа лактирующей молочной железы участвует в синтезе пролина [11]. Увеличение активности нейтральной изоформы аргиназы в гепатоме, индуцированной азосоединениями, связывают с участием

фермента в биосинтезе полиаминов [9]. Наши исследования не характеризуют функциональную значимость изоформ аргиназы мозга. Однако увеличение активности аргиназы только у животных опухоленосителей на 4-е сутки после операции, по-видимому, является одним из показателей метаболических изменений в нервной ткани, вызванных развитием опухолевого процесса. В этот период, по морфологическим данным, выявлены лишь отдельные опухолевые клетки в зоне канала введения. Увеличение активности аргиназы в самом новообразовании на 16-е сутки носит локальный характер и почти не распространяется на нервную ткань, что объясняется особенностями метаболизма данной опухоли. Так или иначе в каждом отдельном случае именно активность изоформы I находится в соответствии с метаболическими изменениями, вызванными ростом невриномы. Указанные сдвиги в активности изоферментов являются результатом изменения либо интенсивности их биосинтеза, либо модификации и метаболической регуляции.

Представленные данные об изменении изоферментного спектра аргиназы при росте невриномы характеризуют одну из метаболических особенностей развития данной опухоли. На примере роста невриномы можно видеть периодичность в изменении изоферментного спектра аргиназы, что отвечает представлениям о неравномерности роста опухолей [5], когда в зависимости от изменения метаболических процессов происходит ускоренный синтез веществ, способствующих быстрому росту опухоли.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Голубев А. М. Изоферменты новообразований. М., 1981.
2. Давтян М. А. — В кн.: Вопросы биохимии

мозга. Ереван, 1968, т. 4, с. 231.

3. Трапезникова С. С., Гуртовенко В. Н., Навасардянц Д. Г. — Вopr. мед. химии, 1983, № 4, с. 95.
4. Трапезникова С. С., Навасардянц Д. Г., Давтян М. А. — Биохимия, 1982 т. 47, с. 2022.
5. Шапош В. С. Биохимические аспекты опухолевого роста. М., 1975.
6. Geyer J. M., Dabich D. — *Analyt. Biochem.*, 1971, vol. 39, p. 412.
7. Gopalakrishna R., Nagarajan B. — *Biochem. Med.*, 1979, vol. 22, p. 70.
8. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L. et al. — *J. biol. Chem.*, 1951, vol. 193, p. 265.
9. Nagarajan B., Gopalakrishna R. — *J. Sci. Industr. Res.*, 1980, v. 89, p. 809.
10. Terayma H., Koji T., Kontani M., Ohmoto T. — *Biochim. biophys. Acta*, 1982, v. 720, p. 188.
11. Yip M. C., Knox W. E. — *Biochem. J.*, 1972, vol. 127, p. 893.
12. Yoneda Y., Roberts E., Dietz G. W. — *J. Neurochem.*, 1982, v. 38, p. 1686.

Поступила 25.05.84

#### ACTIVITY OF ARGINASE ISOENZYMES IN BRAIN DURING GROWTH OF NEURINOMA,

D. G. Navasardyanz, S. S. Trapeznikova, A. S. Khalansky

Institute for Biological Testing of Chemical Compounds, Moscow Region, Cupavna

Activity of arginase and of its isoenzymes was studied in rat brain tissue and in neurinoma tissue (strain 10-13-3) at the period of growth of the tumor in trigeminal nerve. Within the fourth day after the tumor transplantation the total activity of arginase was increased in brain and distinct alterations were found in the isoenzyme spectrum, mainly in the impaired hemisphere. The enzymatic activity was increased in the tumoral tissue within 16 days; the activation was localized in the malignant tissue and did not extent into surrounding nerves. In all the samples studied the positively charged isoenzyme I was activated, whereas the activity of the isoenzyme II was altered only slightly and usually tended to decrease. It was the activity of the isoenzyme I, which appeared to be altered in the growing tumor.

УДК 612.123.-06:[612.766.2+612.391

С. М. Абдраимова, Б. Х. Кошкенбаев, В. Б. Максименко, Ш. С. Тажибаяв

#### ГИПОКИНЕЗИЯ, ПИТАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ ЛИПИДОВ. ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВО-ВИТАМИННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА ЛИПИДЫ И ЛИПОПРОТЕИДЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ ГИПОКИНЕЗИИ

Казахский филиал Института питания АМН СССР, Алма-Ата

К факторам, способствующим возникновению и развитию дислипидемий, относятся ограничение двигательной ак-

тивности и алиментарные нарушения [1]. Однако если роль различных факторов питания в этом процессе охарактеризо-