

УДК 591.1.05

А. М. КАРАПЕТЯН

КОМБИНИРОВАННОЕ ВЛИЯНИЕ РЕНТГЕНОВСКИХ ЛУЧЕЙ И  
ХОЛОДНЫХ УСЛОВИЙ НА МЕТАБОЛИЗМ И НАКОПЛЕНИЕ  
СВОБОДНОГО ПРОЛИНА У ЖУКОВ И ЛИЧИНОК ФАСОЛЕВОЙ  
ЗЕРНОВКИ *ACANTHOSCELIDES OBTECTUS SAY*

У облученных жуков фасолевой зерновки, которые 48 часов оставались в холодных условиях ( $-4^{\circ}\text{C}$ ), количество накопившегося свободного пролина увеличивается по сравнению с необлученными жуками, но остается на том же уровне, что и у облученных жуков, но находившихся 48 часов в термостате ( $28^{\circ}\text{C}$ ). Активность ферментов биосинтеза пролина под воздействием двойного стресса увеличивается в 4,5 раза. Активность ферментов катаболизма пролина у жуков фасолевой зерновки после облучения и в холодных условиях увеличивается приблизительно в 1,2 раза.

У личинок, вылупившихся из облученных яиц, активность ферментов биосинтеза и катаболизма пролина уменьшается в 2 раза.

Как известно, пролин у насекомых является энергетическим субстратом [1]. Их летательные мышцы богаты пролином, который окисляется в 130 раз интенсивнее других аминокислот [2]. Источниками синтеза пролина у различных насекомых могут служить разные аминокислоты. Так, у личинок синей мухи [3] и гусениц тутового шелкопряда [4] больше используется орнитин, а у личинок дрозофилы – глутамат.

Известно также, что ферменты биосинтеза и катаболизма пролина пространственно изолированы: ферменты биосинтеза локализованы в цитозоле, а ферменты катаболизма – в митохондриях. Биосинтез пролина из орнитина довольно подробно исследован на многочисленных объектах – от одноклеточных до млекопитающих [5–7]. Пролин-оксидаза найдена в бактериях, тканях животных и связана с мембранами митохондрий [8].

Исследования последних лет в нашей лаборатории показали, что во время солевого стресса в побегах гороха накапливается значительное количество свободного пролина, что является способом адаптации в этих условиях [9].

Настоящая работа посвящена изучению метаболизма пролина после воздействия двойного стресса (рентгеновское излучение и холодные условия) у жуков фасолевой зерновки, а также изучению влияния рентгеновских лучей на метаболизм пролина у личинок фасолевой зерновки.

**Материал и методика.** Объектом исследования служили жуки *Acanthoscelides obtectus Say*, откладывающие яйца на бобах фасоли. Разви-

тие яиц при 28°C длится 7 дней. При указанной температуре и 75%-ой влажности воздуха созревание жуков заканчивается в течение 28–30 дней.

Гомогенизацию жуков проводили в стеклянном гомогенизаторе типа Поттера–Элведжема на К-Na-фосфатном буфере. Использовали 10%-й гомогенат.

Определение активности ферментов биосинтеза пролина проводили по описанному нами ранее методу [4], а активность ферментов катаболизма – по разработанному в нашей лаборатории методу [10]. Определение пролина проводилось химическим [6] и хроматографическим [11] методами.

Облучение жуков проводили на рентгеновской установке ИРИС-6, ( $\lambda=0,78 \cdot 10^{-9}$  см,  $U=25$  кВ,  $I=15$  мА, время экспозиции – 30 мин).

Статистическая обработка данных проведена по Вознесенскому [12].

**Результаты и обсуждение.** После воздействия рентгеновских лучей одну часть облученных 4-дневных жуков в течение 48 часов держали в холодных условиях при температуре  $-4^{\circ}\text{C}$ , а другую часть – 48 часов при температуре  $28^{\circ}\text{C}$  в термостате, что является оптимальным условием для жизнедеятельности этих жуков. В обоих случаях мы изучали количественное изменение накопившегося пролина. Полученные данные (табл. 1) доказывают, что пролину свойственна протекторная функция и его количество в экстремальных условиях увеличивается. Однако, как видно из табл. 1, у облученных жуков уровень свободного пролина в холодных и термических условиях не меняется, тогда как у необлученных жуков, находившихся в холоде, накапливается больше свободного пролина, чем у жуков, которые были в нормальных условиях.

Таблица 1

*Количество свободного пролина под воздействием двойного стресса у жуков фасоловой зерновки (мкмоль про на 1г ткани)*

Жуки		Количество свободного пролина
необлученные	в термостате	11,38±0,07
	в холодильнике	12,87±0,08
облученные	в термостате	15,76±0,09
	в холодильнике	15,76±0,09

Надо также отметить, что облученные жуки при температуре  $-4^{\circ}\text{C}$  теряли свое активное состояние, восстанавливая его при комнатной температуре, а необлученные жуки даже в этих условиях сохраняли свою обычную активность.

Чтобы установить причину накопления свободного пролина, мы также исследовали активность ферментов его биосинтеза и катаболизма, т.е. пытались понять, является ли накопление пролина результатом усиления его биосинтеза или же, наоборот, снижения активности ферментов окисления пролина. Данные этих исследований представлены в табл. 2.

Как видно из полученных данных, активность ферментов биосинтеза у облученных жуков фасоловой зерновки, которые 48 часов находились при  $-4^{\circ}\text{C}$ , по сравнению с облученными жуками, находившимися в термостате (48 часов после облучения), увеличивается в 4,5 раза, а у необлученных – активность ферментов не меняется.

Активность ферментов катаболизма пролина у облученных жуков фасоловой зерновки в холодных условиях увеличивается почти в 1,2 раза по сравнению с нормальными условиями. У необлученных жуков активность этих ферментов также не подвергается изменению.

Таблица 2

*Активность ферментов биосинтеза (ОТ и П5КР) и катаболизма (ПО и П5КД) пролина под воздействием двойного стресса у жуков фасоловой зерновки*

Жуки		Активность ферментов биосинтеза пролина, мкмоль про на 1г ткани	Активность ферментов катаболизма пролина, мкмоль глу на 1г ткани
необлученные	в термостате	3,21±0,17	13,57±0,43
	в холодильнике	3,86±0,18	13,4±0,42
облученные	в термостате	0,96±0,08	20,97±0,51
	в холодильнике	4,63±0,28	25,87±0,6

Обобщая полученные данные, можем предположить, что такое изменение активности ферментов метаболизма пролина у облученных жуков, находившихся при  $-4^{\circ}\text{C}$ , обусловлено тем, что они из-за двойного стресса свободный пролин не расходовали, а накапливали как протектор. В дальнейших исследованиях нами было обнаружено, что облученные жуки теряют свою функцию воспроизведения в течение двух последующих дней, хотя сразу после облучения они могут размножаться.

В следующих сериях экспериментов мы изучали влияние рентгеновских лучей на ферменты биосинтеза и катаболизма пролина у личинок фасоловой зерновки. Данные этих исследований представлены в таблице 3.

Таблица 3

*Активность ферментов биосинтеза и катаболизма пролина у личинок фасоловой зерновки*

Личинки	Активность ферментов биосинтеза пролина, мкмоль про на 1г ткани	Активность ферментов катаболизма пролина, мкмоль глу на 1г ткани
вылупившиеся из облученных яиц	4,87±0,25	2,05±0,05
вылупившиеся из необлученных яиц	7,72±0,75	4,11±0,09

Данные таблицы 3 показывают, что у личинок, которые вылупились из облученных яиц, активность ферментов биосинтеза и катаболизма пролина уменьшается почти в 2 раза, что свидетельствует о неблагоприятном влиянии рентгеновских лучей на эти ферменты.

Кафедра биохимии

Поступила 02.03.2005

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Sactor B., Childress C. – Arch. Biochem. Biophys., 1967, № 120, p. 583.
2. Sactor B., Wormser-Shavit – Biol. Chem., 1960, № 241, p. 624.
3. Stewart G.R., Lee J.A. – Pi. Sci. Letters, 1974, № 3, p. 173.
4. Агаджанян А.Х., Давтян М.А. – Биолог. ж. Армении, 1974, т. 27, № 5, с. 19–23.
5. Гукасян Дж.Г., Агаджанян А.Х. – Там же, 1988, т. 41, № 4, с. 307–312.
6. Агаджанян А.Х., Заки А.М., Давтян М.А. – Там же, 1990, т. 43, № 6, с. 532.

7. Заробян Т.Я., Агаджанян А.Х., Давтян М.А. – Там же, 1976, т. 29, № 6, с. 28–34.
8. Jonson A.V., Streker H.J. – J. Biol. Chem., 1962, v. 237, p. 1876–1881.
9. Агаджанян А.Х., Молаи Рад М.Б., Гукасян Дж.Г. – Биолог. ж. Армении, 1999, т. 3–4, № 52, с. 242.
10. Мартиросян М.С., Агаджанян А.Х. – Вестник МАНЭБ, 2001, № 6, с. 42.
11. Blumenkrantz N. – Chem. Biochem., 1980, № 13, p. 177.
12. Hrabetova E., Tury L. – J. Chromatogr., 1960, № 3, p. 199.
13. Вознесенский В.Л. Первичная обработка экспериментальных данных. Л., 1969.

## Հ. Մ. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ

ՌԵՆՏԳԵՆՅԱՆ ՃԱՌԱԳԱՅԹՆԵՐԻ ԵՎ ՑԱԾԻ ՋԵՐՄԱՍՏԻՃԱՆԱՅԻՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐԻ ՀԱՄԱՏԵՂ ԱՉԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՉԱՏ ՊՐՈՂԻՆԻ ԿՈՒՏԱԿՄԱՆ ԵՎ ՆՐԱ ՆՅՈՒԹԱՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ ԼՈՐՈՒ ԸՆԴԱԿԵՐԻ ԲԶԵՉՆԵՐՈՒՄ

### Ամփոփում

Ազատ պրոլինի քանակությունը ճառագայթված և 48 ժամ սառը պայմաններում ( $-4^{\circ}\text{C}$ ) պահված լոբու ընդակերի բզեզներում ավելանում է չճառագայթված բզեզների պրոլինի համեմատությամբ, բայց մնում է նույն մակարդակի վրա, ինչ և ճառագայթված ու թերմոստատում ( $28^{\circ}\text{C}$ ) պահված լոբու ընդակերի բզեզներինը:

Պրոլինի կենսասինթեզի ֆերմենտների ակտիվությունը ռենտգենյան ճառագայթների և սառը պայմանների համատեղ ազդեցությունից ավելանում է 4,5 անգամ միայն ճառագայթների ազդեցությանը ենթարկված բզեզների պրոլինի համեմատությամբ: Պրոլինօքսիդազ ֆերմենտի ակտիվությունը կրկնակի ստրեսի պայմաններում ավելանում է 1,2 անգամ: Իսկ չճառագայթված բզեզների այդ ցուցանիշը համարյա չի փոխվում:

Ճառագայթված ձվերից դուրս եկած հասուն բրթուրների պրոլինի կենսասինթեզի և կատաբոլիզմի ֆերմենտների ակտիվությունը նվազում է 2 անգամ:

H. M. KARAPETYAN

COMBINED INFLUENCE OF X-RAYS AND COLD CONDITIONS ON  
HEEP AND METABOLISM PROLIN IN HARICOT BEETLES AND LARVAE  
*ACANTHOSCELIDES OBTECTUS SAY*

### Summary

The quantity of free prolin in radiated beetles which are kept for 48 hours in cold conditions increases in comparison with non-radiated beetles, but it remains on the same level as in the radiated beetles kept in warm conditions for 48 hours. The activity of the enzymes of prolin biosynthesis increases 4,5 times, because of the X-rays and cold conditions, in comparison with beetles only radiated, but it does not change in no-radiated beetles. The activity of the enzymes of prolin catabolism increases 1,2 times.

Ripe larvae are originated from the radiated eggs, the enzymes of prolin biosynthesis and catabolism fails 2 times.