Доклады Академии наук СССР
1955. Том 104, № 3

БИОХИМИЯ

А. В. СТРЕЛИНА

ОБ ЭВОЛЮЦИИ УГОЛЬНОЙ АНГИДРАЗЫ У ПОЗВОНОЧНЫХ

(Представлено академиком Л. А. Орбели 28 IV 1955)

Сравнительно-физиологическое изучение карбоангидразной активности крови в ряду позвоночных было проведено мною совместно с З. Д. Пигаревой ([1]) в лаборатории Е. М. Крепса. Однако это исследование охватывало лишь одну из сторон деятельности угольной ангидразы — ее активность в гидратационном катализе. Между тем обратный процесс, т. е. дегидратационный катализ, повидимому, не менее важный в организме, по нашим собственным и некоторым литературным данным, не всегда протекает с интенсивностью, равной процессу гидратации. В связи с этим представляло интерес проследить в эволюции животных изменение активности угольной ангидразы параллельно в гидратационном и дегидратационном катализе. Этому вопросу посвящена данная работа.

Таблица 1

Гидратацониая и дегидратационная активность угольной ангидразы у пресмыкающихся (в условных единицах)

Объект исследования	$A_{гидр}$	$A_{дегидр.}$	$\frac{A_{дегидр.}}{A_{гидр}}$
Водяная черепаха	0,06	0,70	**11,6**
	0,04	0,62	**15,5**
	0,09	0,84	9,3
	0,08	0,77	9,6
Средн.	0,07	0,76	10,9
Желтопузик	0,02	0,57	**28,5**
	0,02	0,46	23,0
	0,02	0,70	35,0
	0,02	0,11	5,5
Средн.	0,02	0,45	22,5
Средн. по классу пресмыкающихся			16,7

Мы изучали активность угольной ангидразы в крови пресмыкающихся, птиц и млекопитающих. Для определения активности энзима по реакции гидратации ($A_{гидр}$) был использован колориметрический метод Фильпота и Фильпота ([2]). Достоинством этого метода является быстрый и четкий переход окраски индикатора, обеспечивающий точность измерения скорости реакции, а также устранение из системы ртути, которая легко загрязняется субстратом и может отравлять фермент. Активность угольной ангидразы в дегидратационном катализе ($A_{дегидр}$) измерялась манометрическим методом Мельдрума и Раутона ([3]).

Имея в виду уже известный факт индивидуальных отличий карбоангидразной активности у различных особей одного вида, а также возможные физиологические сдвиги у одного и того же объекта, мы брали одну и ту же порцию крови для анализа активности угольной ангидразы по реакции гидратации и дегидратации. Во всех опытах разведение крови было одинаковым и равнялось 1 : 8000.

Как известно, за единицу активности угольной ангидразы принимают такую активность фермента, которая укорачивает время контрольной

реакции в два раза. Однако получаемые результаты измерений ферментативной активности зависят от использования того или иного метода, т. е. условий протекания реакций. По нашим наблюдениям, например, активность угольной ангидразы по реакции гидратации, определяемая методом Фильпота и Фильпота, приблизительно в 2,5 раза меньше таковой, выражаемой в единицах метода Бринкмана. Следует отметить в связи с этим также условность сопоставления единиц активности угольной ангидразы по реакции гидратации и дегидратации.

Весь фактический материал по активности угольной ангидразы у разных классов позвоночных приведен в табл. 1—3. В табл. 1 собраны результаты наблюдений по классу пресмыкающихся. Опыты проводились на черепахах (Emys orbicularis) и желтопузиках (Ophisaurus s.).

Оба вида исследованных животных, достаточно отличающихся между собою по образу жизни, подвижности и другим физиологическим показателям, имеют сходные отношения в ферментативной активности карбоангидразы. У обоих видов животных по реакции гидратации активность фермента в крови почти отсутствует, в то время как по дегидратации она достигает значительных величин (см. табл. 1).

Таблица 2

Гидратационная и дегидратационная активность угольной ангидразы у птиц (в условных единицах)

Объект исследования	$A_{гидр}$	$A_{дегидр}$	$\frac{A_{дегидр}}{A_{гидр}}$
Голубь	0,02	1,50	25,0
	0,02	0,62	31,0
	0,09	0,62	7,7
	0,02	0,62	31,0
	0,06	0,72	12,0
	Средн. 0,04	0,81	20,2
Чечетка	0,02	0,45	22,5
	0,02	0,37	18,5
	Средн. 0,02	0,41	20,5
Гусь домашний	0,17	3,00	17,6
	0,02	4,30	215,0
	0,04	2,30	57,5
	0,15	2,10	14,0
	0,11	2,10	19,0
	Средн. 0,09	2,76	30,6
Утка домашняя	0,09	1,50	16,6
	0,02	1,12	56,0
	Средн. 0,05	1,31	36,3
Кура домашняя	0,09	2,10	23,3
	0,04	2,00	50,0
	0,02	1,25	62,5
	0,08	2,70	24,6
	Средн. 0,06	2,01	40,1
	Средн. по классу птиц		26,2

Активность угольной ангидразы у птиц по реакциям гидратации и дегидратации иллюстрируется табл. 2. Для опытов были использованы голуби, гуси, утки, куры и чечетки.

У всех исследованных птиц, как и у пресмыкающихся, активность угольной ангидразы оказалась по реакции дегидратации значительно выше, чем по гидратации.

Принимая во внимание уже рассмотренные выше данные по каталитической активности крови у пресмыкающихся, мы можем сделать вывод о том, что соотношение по реакциям дегидратации и гидратации с преобладанием активности угольной ангидразы в дегидратационном катализе присуще всей группе Sauropsida.

Изучение карбоангидразной активности у высшего класса позвоночных — млекопитающих проводилось на крысах, кроликах, собаках, кошках и человеке. Полученный материал по классу млекопитающих приведен в табл. 3.

Из приведенных цифр можно видеть, что ни у одного из исследованных объектов, принадлежащих к классу млекопитающих, мы не наблюдали тех соотношений по реакциям дегидратации и гидратации, которые были характерны для представителей Sauropsida.

Каталитическая активность по обеим фазам реакции, выражаемая в своих условных единицах, имеет у млекопитающих приблизительно одно и то же цифровое значение, так что соотношение активности фермента по реакции дегидрации и активности гидратации приближается к единице.

Высокую каталитическую активность угольной ангидразы по реакции гидратации у млекопитающих отмечает также А. А. Смирнов (4). Однако в его работе отношение A дегидр/A гидр не так близко к единице, как у нас. Мы думаем, что некоторое количественное несоответствие наших результатов с данными Смирнова можно объяснить различием методов определения скорости реакции гидратации, что, как было отмечено выше, может влиять на получаемые значения величины карбоангидразной активности. Вместе с тем важно отметить, что обе работы говорят в пользу значительной активности угольной ангидразы в гидратационном катализе у млекопитающих.

Таблица 3

Гидратационная и дегидратационная активность угольной ангидразы у млекопитающих (в условных единицах)

Объект исследования	$A_{гидр}$	$A_{дегидр}$	$\frac{A_{дегидр}}{A_{гидр}}$
Крыса белая	1,97	2,00	1,10
	2,07	2,99	1,38
	1,55	1,50	0,97
	2,91	3,22	1,10
	2,13	2,20	1,03
	Средн. 2,13	2,39	1,11
Кролик	0,95	1,00	1,05
	1,64	1,40	0,90
	1,76	1,60	0,90
	2,13	1,70	0,80
	1,30	1,21	0,93
	Средн. 1,56	1,38	0,91
Кошка	1,35	0,80	0,60
	1,90	1,30	0,70
	1,70	1,15	0,70
	1,13	0,90	0,80
	1,13	0,90	0,80
	Средн. 1,44	1,01	0,72
Собака	1,35	1,50	1,11
	0,80	0,80	1,00
	0,80	0,71	0,88
	0,88	1,00	1,13
	Средн. 0,96	1,00	1,03
Человек	0,72	0,80	1,11
	0,71	0,60	0,93
	0,68	0,60	0,90
	0,80	0,84	1,05
	0,80	0,92	1,15
	Средн. 0,74	0,75	1,03
Средн. по классу млекопитающих			0,96

Повидимому, обнаруженная у млекопитающих высокая гидратационная активность карбоангидразы присуща только этому классу позвоночных и отличает их от всех остальных представителей этого высшего подтипа животных. В пользу высказанного мнения говорят данные нашей предыдущей работы (1), которые показывают, что у рыб и амфибий активность угольной ангидразы по реакции гидратации в общем так же низка, как у рептилий и птиц. В противоположность этому дегидратационный катализ у костистых рыб, как отмечает Лейнер (5), достигает значительных величин

Несмотря на то, что в нашем исследовании в пределах класса были подобраны виды, наиболее разнообразные по образу жизни, способу передвижения и степени подвижности, соотношение активности угольной ангидразы у разных видов внутри класса по реакциям дегидратации и гидратации колеблется в общем незначительно. Таким образом, оно определяется почти целиком принадлежностью вида животного к данному классу и является признаком больших таксономических единиц (6). Повышение гидратационной активности карбоангидразы является эволюционным достижением класса млекопитающих.

Резюмируя, мы можем сделать два основных вывода:

1. В филогенезе, по крайней мере в пределах подтипа позвоночных, прежде всего появляется функция дегидратационной активности угольной ангидразы.

2. В процессе эволюции позвоночных происходит повышение активности угольной ангидразы в фазе гидратации, которая только у млекопитающих достигает значительных величин.

На основании проведенной работы нам хочется подчеркнуть также методическую сторону вопроса, а именно — важность проведения исследований по угольной ангидразе параллельно по обеим фазам обратимых реакций: $CO_2 + H_2O \rightleftarrows H_2CO_3$ и $CO_2 + OH \rightleftarrows HCO_3$.

Поступило
23 IV 1955

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] А. В. Меньшикова, З. Д. Пигарева, Тр. Физиол. инст. им. И. П. Павлова АН СССР, 1, 84 (1945). [2] F. I. Philpot, J. St. Philpot, Biochem. J., 30, 2191 (1936). [3] E. Meldrum, F. J. Roughton, Physiol., 80, 113 (1933). [4] А. А. Смирнов, Биохимия, 1, 1 (1953). [5] H. Leiner, Zs. f. vergl. Physiol., 80, 113 (1933). [6] А. В. Стрелина, Об активаторах и инактиваторах угольной ангидразы, Диссертация, Л., 1950.