



УДК 577.152.353:577.151.35/.36

DOI: 10.20538/1682-0363-2018-1-7-14

Для цитирования: Алексеевская Е.С., Субботина Т.Ф., Жлоба А.А. Гомолог аргинина гомоаргинин в качестве субстрата аргинин:глицинамидинотрансферазы и аргиназ человека. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (1): 7–14.

Гомолог аргинина гомоаргинин в качестве субстрата аргинин:глицинамидинотрансферазы и аргиназ человека

Алексеевская Е.С.^{1,2}, Субботина Т.Ф.^{1,2}, Жлоба А.А.^{1,2}

¹ *Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет (ПСПбГМУ) им. акад. И.П. Павлова Россия, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6/8*

² *Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) имени В.А. Алмазова Россия, 197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2*

РЕЗЮМЕ

L-гомоаргинин (гАрг) является некодируемой аминокислотой, снижение в крови уровня которой ассоциировано с повышением риска развития инсульта и инфаркта. В организме человека и животных гАрг образуется преимущественно в ходе реакции, катализируемой ферментом метаболического пути биосинтеза креатина – аргинин:глицинамидинотрансферазой (АГАТ, КФ 2.1.4.1), в случае, когда акцептором амидиновой группы аргинина вместо глицина выступает *L*-лизин. Метаболическое значение и причины снижения уровня гАрг в настоящее время изучены недостаточно.

Цель настоящего исследования – изучение возможности утилизации гАрг в качестве субстрата АГАТ и аргиназ человека.

Материалы и методы. В ходе экспериментов с рекомбинантными ферментами обнаружено, что K_m для гАрг в реакции, катализируемой АГАТ, в сторону образования гуанидинуксусной кислоты составляет $(12,0 \pm 1,1)$ мМ. В реакциях, катализируемых аргиназами обоих типов, активность в отношении гАрг, в отличие от аргинина, не регистрировалась.

Заключение. Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что у человека гАрг является субстратом не только для NO-синтаз, но также для АГАТ. Полученные данные указывают на то, что метаболическое значение гАрг, помимо регуляции сосудистого тонуса, может быть связано с участием в энергетическом обмене клеток. Согласно представленным данным, снижение уровня гАрг в крови при сердечно-сосудистых заболеваниях, по всей видимости, не связано с обнаруживаемым повышением активности аргиназ.

Ключевые слова: гомоаргинин, аргинин:глицинамидинотрансфераза, аргиназа, креатин, гуанидинуксусная кислота.

ВВЕДЕНИЕ

L-гомоаргинин (гАрг) в больших количествах синтезируется в некоторых растениях [1]. В организме человека и животных гАрг образуется преимущественно в ходе реакции, катали-

зируемой аргинин:глицинамидинотрансферазой (АГАТ, КФ 2.1.4.1), в случае, когда акцептором амидиновой группы вместо глицина выступает *L*-лизин [2, 3] (рис. 1, *b*). В основной АГАТ-реакции, протекающей преимущественно в митохондриях, в результате переноса амидиновой группировки на аминокислотную группу глицина синтезируется гуанидинуксусная кислота (рис. 1, *a*), которая

✉ Алексеевская Елизавета Сергеевна, e-mail: alizlex@mail.ru.

после метилирования образует креатин. АГАТ у человека экспрессируется в различных тканях, но

наибольшая активность обнаружена в почках и поджелудочной железе [4].

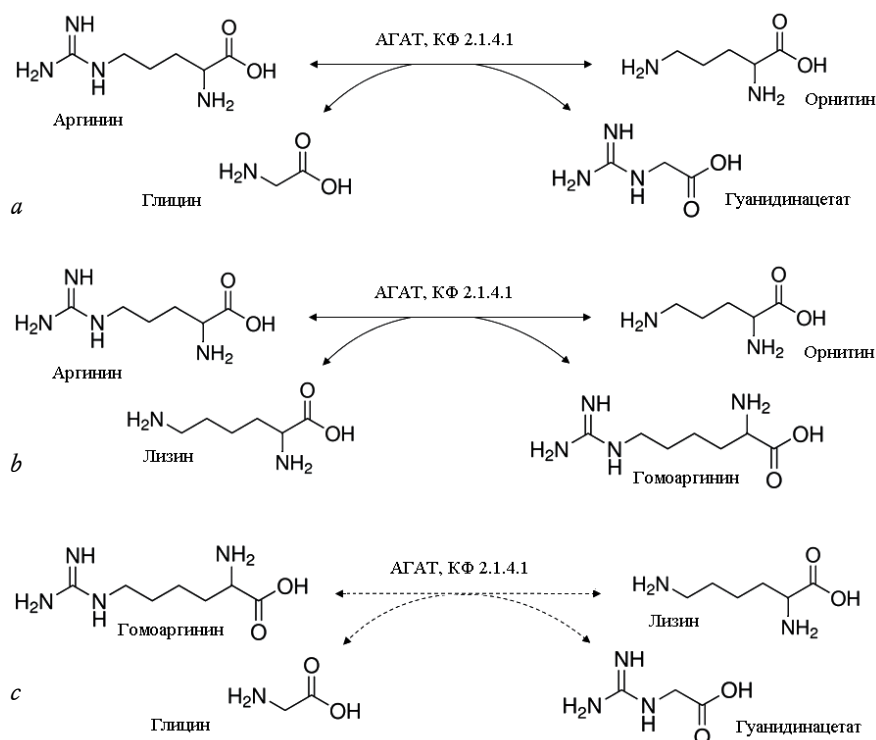


Рис. 1. Известные и предполагаемые реакции, катализируемые аргинин:глицинаминотрансферазой (АГАТ): *a* – основная реакция, образование предшественника креатина (гуанидинуксусной кислоты); *b* – реакция образования гомоаргинина из аргинина и лизина; *c* – предполагаемая реакция, в которой в качестве донора амидиновой группы выступает гомоаргинин

Fig. 1. Known and suspected reactions catalyzed by arginine:glycine aminotransferase (AGAT): *a* – the main reaction, the formation of the precursor of creatine (guanidinoacetic acid); *b* – reaction of formation of homoarginine from arginine and lysine; *c* – an alleged reaction in which homoarginine acts as an amidine group donor

Обнаруженная в ходе исследований последних лет ассоциация низкого уровня гАрг и высокого риска острых сердечно-сосудистых событий [5–7] обуславливает особый интерес к изучению метаболизма гАрг. В отношении аргинина эта ассоциация не прослеживается [5]. Механизм, лежащий в основе обнаруженной связи между уровнем гАрг и риском развития инфаркта и инсульта, остается неясным. Положительное воздействие высоких доз добавок экзогенного гАрг в эксперименте в условиях реперфузии мозговой ткани [3] указывает на существование метаболического пути утилизации гАрг. Известно, что гАрг может выступать в качестве субстрата NO-синтаз, но с меньшим сродством, чем аргинин [8]. В силу обратимости реакций, катализируемых АГАТ [9, 10], логично предположить, что метаболическое значение гАрг, особенно в условиях введения больших количеств данной аминокислоты, может быть связано с непосред-

ственным участием в синтезе гуанидинуксусной кислоты в качестве донора амидиновой группы вместо аргинина (рис. 1, *c*). Результаты исследований этого вопроса у животных являются противоречивыми [9, 11, 12], в то время как данные по изучению активности человеческой АГАТ к гАрг в качестве субстрата в прямой реакции в настоящее время отсутствуют. ГАрг, подобно лизину, обладает способностью ингибировать аргиназы (КФ 3.5.3.1), хотя это ингибирующее влияние гАрг не является значительным [13]. Рядом исследователей не исключается возможность использования гАрг в качестве субстрата, а не ингибитора аргиназ [14, 15]. С учетом повышения активности аргиназ при сердечно-сосудистых заболеваниях [16] возможность снижения уровня гАрг в крови за счет гидролиза аргиназами требует уточнения (рис. 2).

Цель работы – оценить гАрг в качестве субстрата для АГАТ и аргиназ I, II типов.

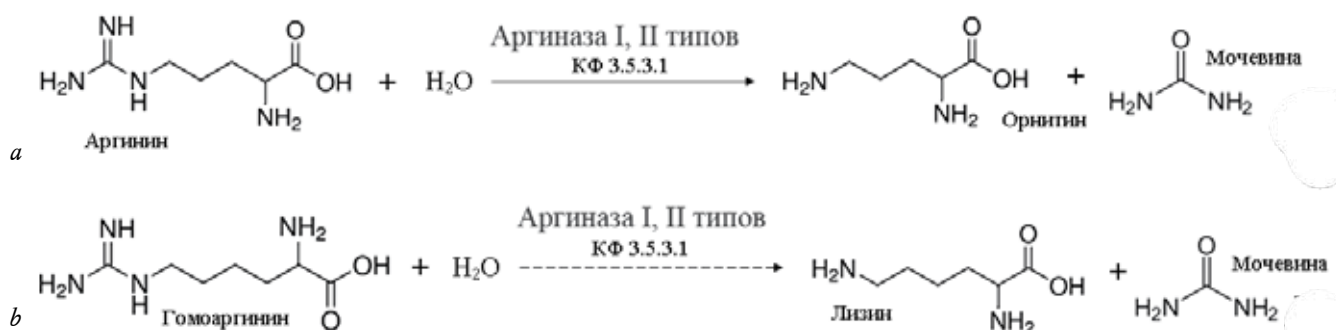


Рис. 2. Образование мочевины из аргинина (а) и возможный путь гидролиза гомоаргинина (б) под действием аргиназ

Fig. 2. Formation of urea from arginine (a) and a possible way of hydrolysis of homoarginine (b) under the action of arginase

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для оценки возможности применения гАрг в качестве субстрата в прямой АГАТ-реакции вместо аргинина (рис. 1, б), а также гидролиза гАрг аргиназами были проведены опыты с использованием препаратов рекомбинантных ферментов человека: митохондриальной АГАТ (ProSpec, США), аргиназы I (R&D Systems Inc., США) и II (Cedarlane, Канада) типов. В ходе хроматографических процедур использовали боратный буфер (кат. № 5061-3339) и ОРА-реагент (кат. № 5061-3335) фирмы Agilent Technologies (США), а также стандарты аминокислот (Sigma-Aldrich, США). В ходе выполнения исследования использовано оборудование: хроматограф Agilent-1100 с флуориметрическим детектором (Agilent Technologies, США); полуавтоматический биохимический анализатор BS-3000p (Sinnova, КНР); термостат твердотельный ТТ-2-«Термит» («ДНК-Технология», Россия). Для приготовления растворов использовали бидистиллированную воду с удельной проводимостью не более 0,1 мкСм/см, которую перед применением освобождали от частиц путем фильтрации через мембраны с порами 0,2 мкм (Phenomenex, Великобритания).

Определение активности АГАТ. Препарат фермента хранили в 20 мМ трис-НСl буфере, рН 8,0, содержащем 2 мМ дитиотреитола и 10% глицерола. Рабочий раствор фермента готовили на 20 мМ трис-НСl буфере, рН 8,0, содержащем альбумин 1 мг/мл, 154 мМ NaCl. Перед реакцией фермент преинкубировали в течение 10 мин при 37 °С в присутствии одного из субстратов – 25 мМ глицина, 0,1 М натрий-фосфатного буфера, рН 7,4, 154 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА. Ферментативную реакцию начинали с добавления раствора второго субстрата (аргинина или гАрг), 0,1 М натрий-фосфатный

буфер, рН 7,4, 154 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА. K_m АГАТ в отношении гАрг определяли, варьируя концентрацию гАрг при постоянной концентрации глицина 25 мМ. Инкубировали при 37 °С в течение 1 ч.

Реакцию останавливали добавлением осаждающего раствора метанола с муравьиной кислотой, содержащего норвалин в качестве внутреннего стандарта, в соотношении 1 : 2,75. Активность фермента и скорость реакции оценивали по уровню образовавшегося продукта реакции – орнитина (донор аргинин) или лизина (субстрат гАрг). Концентрацию ортофталевых дериватов субстратов и продуктов реакции определяли после обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием колонки Zorbax Eclipse AAA C18 (150 x 4,6 мм, 3,5 мкм) согласно рекомендациям фирмы Agilent Technologies [17] в авторской модификации, позволяющей определять с достаточной точностью концентрации производных аргинина – гАрг и орнитина. Реакцию получения ортофталевых производных проводили в режиме on-line с помощью аутосамплера Agilent 1100 путем смешивания 2,5 мкл боратного буфера, 0,5 мкл ортофталевого (ОРА)-реагента и 0,5 мкл образца. После 6-кратного перемешивания в седле аутосамплера и 0,1-минутной задержки флуоресцирующие производные аминокислот поступали в поток и на хроматографическую колонку со скоростью 1,5 мл/мин. Элюцию проводили при 40 °С в градиенте подвижной фазы путем смешивания фаз: А (40 мМ натрий-фосфатный буфер, рН 7,8) и Б (ацетонитрил : метанол : вода (45 : 45 : 10)).

Содержание фазы Б возрастало от 1,5 до 10% к 0,1-й мин и далее с 10 до 14% к 11-й мин, затем достигало 20% к 15-й мин и 60% к 26-й мин. После 3-минутного промывания 100% фазы Б

колонку уравнивали в течение 4 мин стартовой смесью фаз с содержанием 1,5% фазы Б. Регистрацию флуоресценции элюата проводили при длине волны возбуждения 340 и 455 нм испускания. Целесообразность использования растворов *L*-норвалина в качестве внутреннего стандарта для определения аминокислот была показана нами ранее [18]. Уровень гАрг контролировали в реакционных смесях одновременно с определением других продуктов реакций.

В предложенной модификации метода гАрг элюируется с хорошим разрешением между пиками аланина и тирозина, а пик орнитина – между пиками изолейцина и лейцина. Элюция остальных аминокислот соответствовала указанному выше протоколу определения [17]. В отдельной серии экспериментов нами установлен предел количественного определения (LOQ) для гАрг в образцах плазмы крови ($0,20 \pm 0,05$) мкМ, а коэффициент аналитической вариации 3,1% ($n = 10$). Эти аналитические характеристики весьма близки к другим современным методам определения гАрг, основанным на ВЭЖХ [19].

Определение активности аргиназ. Растворы аргиназ перед использованием выдерживали при 55 °С в течение 10 мин в присутствии ионов Mn^{2+} , 20 мМ трис-НСl, рН 8,0, 10 мМ $MnCl_2$. Аргиназы являются термостабильными ферментами [20], и их активация в условиях повышения температуры до 50–55 °С в присутствии ионов металла-кофактора подробно описана [21, 22]. Ферментативную реакцию начинали с добавления раствора субстрата (аргинин или гАрг), 50 мМ глицин- $NaOH$ буфер, рН 9,6. Инкубировали при 37 °С в течение 1 ч. Реакцию останавливали нагреванием в течение 3 мин при температуре около 100 °С. Активность ферментов и скорость реакции оценивали по уровню образовавшегося продукта реакции – мочевины, которую определяли с использованием коммерческого набора реактивов (PZ CORMAY S.A., Польша).

Статистическая обработка результатов. Значение кинетических констант определено с использованием первичных данных без линеаризации путем построения нелинейной регрессионной модели согласно уравнению Михаэлиса – Ментен с помощью пакета программ SAS Enterprise Guide 6.1. Использовали модель $y = x/(a + b \cdot x)$, в которой константа a соответствует K_m/V_{max} , а константа $b - 1/V_{max}$. Для определения K_m АГАТ в отношении гАрг определяли начальную скорость образования лизина, варьируя концентрацию гАрг от 10 до 200 мМ при постоянной концентрации глицина в 25 мМ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе экспериментов с рекомбинантной человеческой АГАТ обнаружено, что под действием фермента в среде, содержащей гАрг и глицин, идет образование лизина в количествах, эквивалентных снижению концентрации гАрг. Эти результаты указывают на то, что гАрг является не только продуктом АГАТ, но и может выступать в качестве донора амидиновой группы вместо аргинина. На основании полученных данных о начальной скорости образования лизина в зависимости от концентрации гАрг (рис. 3) были рассчитаны кинетические параметры изучаемой реакции (таблица). Была построена регрессионная модель зависимости скорости реакции (V) от концентрации субстрата гАрг (S) – $V = S/(49,84 + 4,15 \cdot S)$, с уровнем статистической значимости $p = 0,0006$. Исходя из равенств $1/V_{max} = 4,15 \pm 0,098$ и $K_m/V_{max} = 49,84 \pm 4,57$, были рассчитаны кинетические константы.

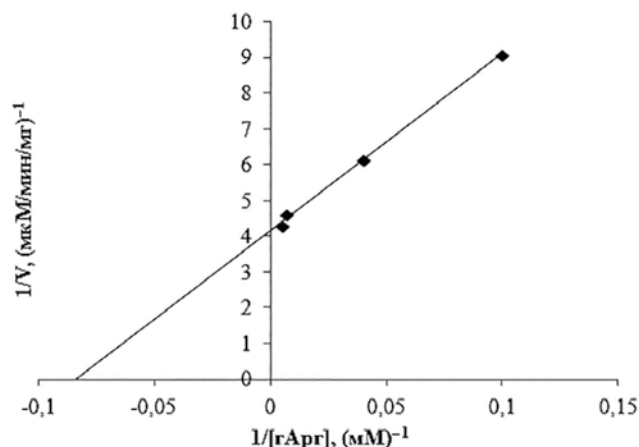


Рис. 3. Диаграмма Лайнуивера – Бэрка зависимости скорости реакции, катализируемой аргинин:глицин-амидинотрансферазой, от концентрации гомоаргинина (гАрг) в двойных обратных координатах

Fig. 3. Lineweaver – Burk plot which illustrates the dependence of the reaction rate, catalyzed by arginine: glycine aminotransferase, on the concentration of homoarginine (gArg) in double inverse coordinates

При концентрации субстратов на уровне $10 K_m$ активность АГАТ в отношении гАрг была равна 0,22 мкмоль/мин на 1 мг фермента, в то время в отношении аргинина активность АГАТ в таких же условиях составила 0,43 мкмоль/мин на мг фермента, что соответствует максимальной активности АГАТ в отношении аргинина по данным других исследователей (см. таблицу).

Таким образом, оценка гАрг лишь как «побочного продукта» пути биосинтеза креатина, только как «свидетеля» метаболических изменений требует уточнения. Обнаружение протективного эффекта при введении дополнительных количеств гАрг на фоне развития инсульта и инфаркта в эксперименте подтверждает наличие собственного метаболического значения у данной аминокислоты [3, 28].

Особенный интерес для клинической медицины представляет тот факт, что метаболическое действие гАрг наблюдается даже в условиях простого алиментарного введения аминокислоты вместе с пищей [28]. Полученные результаты указывают, что метаболические эффекты гАрг могут быть связаны не только с синтезом NO, но и с улучшением энергетического статуса клетки за счет активации синтеза креатина. Следовательно, существенное влияние на эффективность применения гАрг в качестве терапевтического агента может оказывать наличие мутаций в генах ферментов пути образования креатина. Как известно, уровень гАрг в плазме крови связан с генетическими вариантами АГАТ у человека [3], частота которых варьирует в различных этнических группах [7]. Отсутствие активности аргиназы в отношении гАрг указывает, что снижение уровня гАрг в крови при сердечно-сосудистых заболеваниях, по всей видимости, не связано с обнаруживаемым при данных состояниях повышением активности аргиназы и является еще одним аргументом в пользу того, что гАрг – не просто маркер-«свидетель» метаболических изменений, а значимый участник биохимических путей человека.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-02480.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Onar A.N., Erdoğar B.Y., Ayan I., Acar Z. Homoarginine, β -ODAP, and asparagine contents of grass pea landraces cultivated in Turkey. *Food Chem.* 2014; 143: 277–281. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.07.051.
- Davids M., Ndika J.D., Salomons G.S., Blom H.J., Teerlink T. Promiscuous activity of arginine:glycine amidinotransferase is responsible for the synthesis of the novel cardiovascular risk factor homoarginine. *FEBS Lett.* 2012; 586 (20): 3653–3657. DOI: 10.1016/j.febslet.2012.08.020.
- Choe C.U., Atzler D., Wild P.S., Carter A.M., Böger R.H., Ojeda F., Simova O., Stockebrand M., Lackner K., Nabuurs C., Marescau B., Streichert T., Müller C., Lüneburg N., De Deyn P.P., Benndorf R.A., Baldus S., Gerloff C., Blankenberg S., Heerschap A., Grant P.J., Magnus T., Zeller T., Isbrandt D., Schwedhelm E. Homoarginine levels are regulated by L-arginine:glycine amidinotransferase and affect stroke outcome: results from human and murine studies. *Circulation.* 2013; 128 (13): 1451–1461. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.000580.
- Van Pilsum J.F., Stephens G.C., Taylor D. Distribution of creatine, guanidinoacetate and the enzymes for their biosynthesis in the animal kingdom. Implications for phylogeny. *Biochem. J.* 1972; 126 (2): 325–345. DOI: 10.1042/bj1260325.
- März W., Meinitzer A., Drechsler C., Pilz S., Krane V., Kleber M.E., Fischer J., Winkelmann B.R., Böhm B.O., Ritz E., Wanner C. Homoarginine, cardiovascular risk, and mortality. *Circulation.* 2010; 122 (10): 967–975. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.908988.
- Drechsler C., Meinitzer A., Pilz S., Krane V., Tomaschitz A., Ritz E., März W., Wanner C. Homoarginine, heart failure, and sudden cardiac death in haemodialysis patients. *Eur. J. Heart Fail.* 2011; 13 (8): 852–859. DOI: 10.1093/eurjhf/hfr056.
- Atzler D., Gore M.O., Ayers C.R., Choe C.U., Böger R.H., de Lemos J.A., McGuire D.K., Schwedhelm E. Homoarginine and cardiovascular outcome in the population-based Dallas Heart Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014; 34 (11): 2501–2507. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.304398.
- Moali C., Boucher J.L., Sari M.A., Stuehr D.J., Mansuy D. Substrate specificity of NO synthases: detailed comparison of L-arginine, homo-L-arginine, their Nomega-hydroxy derivatives, and Nomega-hydroxynor-L-arginine. *Biochemistry.* 1998; 37 (29): 10453–10460. DOI: 10.1021/bi980742t.
- Ratner S., Rochovansky O. Biosynthesis of guanidinoacetic acid. I. Purification and properties of transamidinase. *Arch. Biochem. Biophys.* 1956; 63 (2): 277–295. DOI: 10.1016/0003-9861(56)90044-3.
- Walker J.B. Arginine-ornithine transamidination in kidney. *J. Biol. Chem.* 1956; 221 (2): 771–776.
- Walker J.B. Studies on the mechanism of action of kidney transamidinase. *J. Biol. Chem.* 1957; 224 (1): 57–66.
- Conconi F., Grazi E. Transamidinase of hog kidney. I. Purification and properties. *J. Biol. Chem.* 1965; 240 (6): 2461–2464.
- Hrabák A., Bajor T., Temesi A. Comparison of substrate and inhibitor specificity of arginase and nitric oxide (NO) synthase for arginine analogues and related compounds in murine and rat macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994; 198 (1): 206–212. DOI: 10.1006/bbrc.1994.1029.

14. Christiansen B., Wellendorph P., Bräuner-Osborne H. Known regulators of nitric oxide synthase and arginase are agonists at the human G-protein-coupled receptor GPRC6A. *Br. J. Pharmacol.* 2006; 147 (8): 855–863. DOI: 10.1038/sj.bjp.0706682.
15. Mielczarek-Puta M., Chrzanowska A., Barańczyk-Kuźma A. Nowe oblicza arginazy. Część I. Struktura i właściwości. *Postępy Hig. Med. Dosw. (Online)*. 2008; 62: 206–213.
16. Pernow J., Jung C. Arginase as a potential target in the treatment of cardiovascular disease: reversal of arginine steal? *Cardiovasc. Res.* 2013; 98 (3): 334–343. DOI: 10.1093/cvr/cvt036.
17. Bartolomeo M.P., Maisano F. Validation of a reversed-phase HPLC method for quantitative amino acid analysis. *J. Biomol. Tech.* 2006; 17 (2): 131–137.
18. Zhloba A.A., Subbotina T.F., Lupan D.S., Bogova V.A., Kusheleva O.A. Arginine and lysine as products of basic carboxypeptidase activity associated with fibrinolysis. *Biochemistry (Moscow) Suppl. Ser. B: Biomed. Chem.* 2012; 6 (3): 261–265. DOI:10.1134/S1990750812030158.
19. Hou Y., Jia S., Nawaratna G., Hu S., Dahanayaka S., Bazer F.W., Wu G. Analysis of L-homoarginine in biological samples by HPLC involving precolumn derivatization with o-phthalaldehyde and N-acetyl-L-cysteine. *Amino Acids*. 2015; 47 (9): 2005–2014. DOI: 10.1007/s00726-015-1962-9.
20. Scolnick L.R., Kanyo Z.F., Cavalli R.C., Ash D.E., Christianson D.W. Altering the binuclear manganese cluster of arginase diminishes thermostability and catalytic function. *Biochemistry*. 1997; 36 (34): 10558–10565. DOI: 10.1021/bi970800v.
21. Spector E.B., Rice S.C.H., Moedjono S., Bernard B., Cederabaum, S.D. Biochemical properties of arginase in human adult and fetal tissues. *Biochemical Medicine*. 1982; 28 (2): 165–175. DOI: 10.1016/0006-2944(82)90067-9.
22. Colleluori D.M., Morris S.M. Jr., Ash D.E. Expression, purification, and characterization of human type II arginase. *Arch. Biochem. Biophys.* 2001; 389 (1): 135–143. DOI: 10.1006/abbi.2001.2324.
23. Gross M.D., Eggen M.A., Simon A.M., Van Pilsum J.F. The purification and characterization of human kidney L-arginine:glycine amidinotransferase. *Arch. Biochem. Biophys.* 1986; 251 (2): 747–755. DOI: 10.1016/0003-9861(86)90385-1.
24. Fritsche E., Humm A., Huber R. Substrate binding and catalysis by L-arginine:glycine amidinotransferase. A mutagenesis and crystallographic study. *Eur. J. Biochem.* 1997; 247 (2): 483–490. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1997.00483.x.
25. Knowles R.G., Merrett M., Salter M., Moncada S. Differential induction of brain, lung and liver nitric oxide synthase by endotoxin in the rat. *Biochem. J.* 1990; 270 (3): 833–836. DOI: 10.1042/bj2700833.
26. Kato T., Sano M., Mizutani N., Hayakawa C. Homocitrullinuria and homoargininuria in hyperargininaemia. *J. Inher. Metab. Dis.* 1988; 11 (3): 261–265. DOI: 10.1007/bf01800367.
27. Amayreh W., Meyer U., Das A.M. Treatment of arginase deficiency revisited: guanidinoacetate as a therapeutic target and biomarker for therapeutic monitoring. *Dev. Med. Child Neurol.* 2014; 56 (10): 1021–1024. DOI: 10.1111/dmcn.12488.
28. Atzler D., McAndrew D.J., Cordts K., Schneider J.E., Zerovou S., Schwedhelm E., Neubauer S., Lygate C.A. Dietary supplementation with homoarginine preserves cardiac function in a murine model of post-myocardial infarction heart failure. *Circulation*. 2017; 135 (4): 400–402. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.025673.

Поступила в редакцию 23.03.2017

Утверждена к печати 30.06.2017

Алексеевская Елизавета Сергеевна, науч. сотрудник, отдел биохимии, Научно-образовательный институт (НОИ) биомедицины, ПСПбГМУ им. И.П. Павлова; мл. науч. сотрудник, группа протеомики, Институт молекулярной биологии и генетики, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург.

Субботина Татьяна Фёдоровна, д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией биохимического мониторинга, отдел биохимии, НОИ биомедицины, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова; вед. науч. сотрудник, группа протеомики, Институт молекулярной биологии и генетики, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург.

Жлоба Александр Анатольевич, д-р мед. наук, профессор, руководитель отдела биохимии, НОИ биомедицины, ПСПбГМУ им. И.П. Павлова; вед. науч. сотрудник, руководитель группы протеомики, Институт молекулярной биологии и генетики, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург.

(✉) Алексеевская Елизавета Сергеевна, e-mail: alizlex@mail.ru.

УДК 577.152.353:577.151.35/.36

DOI: 10.20538/1682-0363-2018-1-7-14

For citation: Alekseevskaya E.S., Subbotina T.F., Zhloba A.A. Homoarginine, the methylene homologue of arginine, as a substrate of human arginine:glycine amidinotransferase and arginases. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17 (1): 7–14.

Homoarginine, the methylene homologue of arginine, as a substrate of human arginine:glycine amidinotransferase and arginases

Alekseevskaya E.S.^{1,2}, Subbotina T.F.^{1,2}, Zhloba A.A.^{1,2}

¹ Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University
6/8, Lva Tolstogo Str., Saint Petersburg, 197022, Russian Federation

² V.A. Almazov Federal North-West Medical Research Centre
2, Akkuratova Str., Saint Petersburg, 197341, Russian Federation

ABSTRACT

L-homoarginine (hArg) is a non-coding amino acid, the blood level reduction of which is associated with an increased risk of stroke and heart attack. In humans and animals, hArg is mainly formed during the reaction catalyzed by the enzyme of the metabolic pathway of creatine biosynthesis: arginine: glycine amidotransferase (AGAT, EC 2.1.4.1), in the case where L-lysine acts instead of glycine as an acceptor of the arginine amidine group. It has been shown that hArg can serve for nitric oxide biosynthesis which is seemed a single significant enzymatic pathway established for hArg.

The aim of this study was to investigate hArg as a substrate human AGAT and arginases.

Materials and methods. In experiments with recombinant enzymes we established that K_m for hArg in the reaction catalyzed by AGAT towards the formation of guanidinoacetic acid is 12.0 ± 1.1 mM. In reactions catalyzed by both types of arginase activity against hArg, unlike arginine, was not detected.

Conclusions. Thus, the present study established that hArg may be considered as a substrate of AGAT additionally to nitric oxide synthases. Metabolic value of hArg, in addition to regulation of vascular tone, can be associated with cell energy metabolism. According to our data a decrease of hArg blood levels in cardiovascular diseases appears to be unrelated to a detectable increase of arginase activity.

Key words: homoarginine, arginine:glycine amidinotransferase, arginase, creatine, guanidinoacetic acid.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The work is supported by the RFBR grant No. 15-04-02480.

Received 23.03.2017

Accepted 06.02.2018

Alekseevskaya Elizaveta S., Researcher, Biochemistry Department, Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russian Federation; Junior Researcher, Proteomics Group, V.A. Almazov Federal North-West Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russian Federation.

Subbotina Tatiana F., DM, Professor, Head of the Biochemistry Laboratory, Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russian Federation; Leading Researcher of Proteomics Group, V.A. Almazov Federal North-West Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russian Federation.

Zhloba Aleksandr A., DM, Professor, Head of the Biochemistry Department, Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russian Federation; Leading Researcher and Head of the Proteomics Group, V.A. Almazov Federal North-West Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russian Federation.

(✉) Alekseevskaya Elizaveta S., e-mail: alizlex@mail.ru.