

2. Վ. ՄԱՏԻՆՅԱՆ

ՔԼՈՐՈՊԵՆՆԻ ԵՎ ՀԻՊՈՍՈՒԼՖԻՏԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՕՐՆԻՏԻՆՏՐԱՆՍԿԱՐԲԱՄԻԼԱԶԱՅԻ ՈՒ ԿԱՐԲԱՄԻԼՈՍՖԱՏՍԻՆԹԵՏԱԶԱՅԻ
ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ինչպես ցույց ենք տվել մեր նախորդ աշխատություններում [4,5], քլորոպրենային թունավորման ժամանակ սպիտակուցների փոխանակության մեջ կատարվում են արմատական փոփոխություններ, որոնք բոլորն էլ կանոնավորվում են հիպոսուլֆիտի մի քանի ներարկումից հետո: Մխիթարյանը [9], Ավետիսյանը [1] և այլ հեղինակներ, ուսումնասիրելով քլորոպրենային թունավորման ազդեցությունը օրգանիզմի վրա, ցույց են տվել արյան սպիտակուցների թե՛ քանակական և թե՛ որակական փոփոխություններ: Նշված փաստը պիտի իր լուսաբանումը գտնենք քլորոպրենի և հիպոսուլֆիտի ազդման մեխանիզմի պարզաբանման միջոցով: Այդ ուղղությամբ մենք կատարել ենք մի քանի հետազոտություններ [6,7], որոնց միջոցով պարզաբանել ենք քլորոպրենի և հիպոսուլֆիտի ազդման մեխանիզմը սպիտակուցային փոխանակության մի քանի կարևոր օղակների վրա:

Սույն աշխատությունը հանդիսանում է նշված հետազոտությունների շարունակությունը:

Ուսումնասիրվել է կարբամիլֆոսֆատսինթետազայի և օրնիտինտրանսկարբամիլազայի միջոցով իրականացվող՝ միզանյութի սինթեզի սկզբնական օղակը, իսկ վերջինս հանդիսանում է սպիտակուցային փոխանակության եզրափակիչ փուլը:

Այս հետազոտության կարևորությունն ավելի ընդգծվում է նրանով, որ միզանյութը սինթեզվում է լյարդում, իսկ քլորոպրենային թունավորման ժամանակ առաջին հերթին և ամենախորը կերպով ախտահարվում է լյարդը, որը և դառնում է կենդանու մահվան պատճառը [8]: Դժվար չէ կոահել, որ այդ աստիճան ախտահարված լյարդում միզանյութի սինթեզը կարող է խանգարված լինել: Ահա թե ինչու մեզ համար առանձնապես հետաքրքրական էր պարզել քլորոպրենի և հիպոսուլֆիտի ազդման մեխանիզմը միզանյութի սինթեզին մասնակցող ֆերմենտների ակտիվության վրա:

Փորձերը դրվել են սպիտակ առնետների վրա Կարավակա-ի [11] մեթոդով: Օգտագործվել են նաև Բրաունշտեյն-ի [2] և Բունիաթյանի [3] աշխատությունները: Կատարվել են ինչպես *in vitro*, այնպես էլ *in vivo* փորձեր: *In vitro* փորձերում օգտագործվել են թե՛ նորմալ և թե՛ քլորոպրենով թունավորված առնետներ: Թունավորումը կատարվել է ամեն օր 2 ժամ, 8 մգ/լ դոզայով, 3—3,5 ամիս տևողությամբ: Բոլոր դեպքերում առնետների լյարդը հոմոգենացվել է և պատրաստվել այսպես կոչված «լիպցված նստվածք», որն ըստ հեղինակի, պարունակում է գլխավորապես միտոքանդրիաներ: Փորձի 3,5 մլ ընդհանուր ծավալին ավելացվել է ցիտրուլինի սինթեզի համար անհրաժեշտ հետևյալ նյութերը համապատասխան քանակներով. մագնեզիումի

սուլֆատ, ամոնիումի քլորիդ, օրնիտին, գլյուտամինաթթու, ադենոզինտրիֆոսֆատ, կալիումի քլորիդ և, որպես ֆերմենտների աղբյուր՝ «լվացված նստվածք»:

Որոշ փորձերում ավելացվել է նաև 25 միկրոմոլ հիպոսուլֆիտ և 0,1 մլ քլորոպրեն (առանձին կամ միասին):

Ավելացված 10 միկրոմոլ ձկնօրնիտինից տեսականորեն հնարավոր է ստանալ 5 միկրոմոլ ցիտրուլին, սակայն մեր փորձերում այդպիսի քանակությունն ստացվեց «լվացված նստվածքի» խտությունը մեծացնելու դեպքում: Դա միակ շեղումն է, որ մենք հարկադրված ենք եղել կատարել նշված մեթոդի նկատմամբ:

Ստացված ցիտրուլինի քանակական որոշումը, որով զաղափար է կազմվել ֆերմենտների ակտիվության մասին, կատարվել է Արչիբալդ-ի [10] կոլորիմետրիկ մեթոդով: Քանակական որոշման կորագիծը կազմելու ժամանակ նկատեցինք, որ մեր կողմից ավելացված հիպոսուլֆիտը փոխում է գունավոր սեղանի ինտենսիվությունը և ցիտրուլինի քանակներն այդ փորձերում չեն համապատասխանում իրականին: Նշված սխալից խուսափելու համար կազմեցինք նոր կորագիծ հիպոսուլֆիտի ներկայությամբ և հետազայում հիպոսուլֆիտի քանակները փորձերում պահպանեցինք հաստատուն: Դրված ստուգիչ փորձերն անվերապահորեն հաստատեցին, որ կազմված կորագիծը տալիս է իրական թվեր: Քլորոպրենի նշված քանակները գունավոր սեղանի վրա ազդեցություն չեն ունենում:

Փորձերը դրվում էին կալիումի ֆոսֆատի բուֆերի [pH=7,2] մեջ, թթվածնի միջավայրում: Մեկ ժամ տևող ինկուբացիայի ընթացքում փորձերն անընդհատ թափահարվում էին հատուկ խառնիչի օգնությամբ,

Աղյուսակ 1-ում բերված են նորմալ առնետների վրա դրված փորձերը, որոնց ավելացվել են քլորոպրեն, հիպոսուլֆիտ կամ նրանց համակցությունը:

Աղյուսակ 1

Քլորոպրենի և հիպոսուլֆիտի ազդեցությունը ցիտրուլինի ստացման վրա

Նորմալ փորձ	Ստացված ցիտրուլինի միկրոմոլերը	Ցիտրուլինի ելքը % օ-ո-ով
Նորմալ փորձ	$5,0 \pm 0,11$ [m] n=16	100
Նույնը + հիպոսուլֆիտ	$4,7 \pm 0,09$ [m] P<0,05 n=16	94
Նույնը + քլորոպրեն	$0,5 \pm 0,05$ [m] P<0,001 n=16	10
Նույնը + հիպոսուլֆիտ + քլորոպրեն	$4,2 \pm 0,08$ [m] P<0,001 n=16	84

Աղյուսակ 1-ի տվյալներից երևում է, որ քլորոպրենի ազդեցությամբ ցիտրուլինի սինթեզը ճնշվում է 10 անգամ: Հիպոսուլֆիտն առանձին վերցրած նույնպես ճնշում է, սակայն շատ չնչին չափով (ցիտրուլինի ելքը 94%): Երբ քլորոպրենը համակցվում է հիպոսուլֆիտի հետ, նրա ճնշող ազդեցությունը

համարյա թե վերանում է, քանի որ ցիտրուլինի ելքը 10%-ից հասնում է 84%-ի:

Մենք հսկված ենք կարծելու, որ եթե փոխվեին քլորոպրենի և հիպոսուլֆիտի կոնցենտրացիաները, կարելի էր հասնել այնպիսի վիճակի, որ հիպոսուլֆիտը լրիվ վերականոններ քլորոպրենի կողմից արգելակված ֆերմենտների ակտիվությունը, սակայն այդպիսի փորձեր մենք չկարողացանք դնել վերը նշված պատճառով:

Փորձերի երկրորդ մասը վերաբերում է նույն ֆերմենտների ակտիվության փոփոխություններին երկարատև քլորոպրենային թունավորման դեպքում: Մեզ հետաքրքրում էր նաև այն հարցը, թե կվերականգնի՞ր արդյոք հիպոսուլֆիտը (ավելացված in vitro) թունավորման հետևանքով արգելակված ֆերմենտների ակտիվությունը:

Պակաս հետաքրքրական չէր նաև in vitro ավելացված քլորոպրենի ազդեցությունը թունավորումից ընկճված ֆերմենտների վրա: Այդ բոլոր հարցերի պատասխանները կարելի է գտնել աղյուսակ 2-ում:

Աղյուսակ 2

Քլորոպրենի և հիպոսուլֆիտի ազդեցությունը ցիտրուլինի ստացման վրա՝ քլորոպրենային թունավորումից հետո

Ցուցանիշներ	Ստացված ցիտրուլինի միկրոմոլերը	Ցիտրուլինի ելքը % համեմատած նորմալ առնետների ելքի հետ
Թունավորումից հետո	$4,0 \pm 0,06$ [m] $P < 0,001$ $A=18$	80
Նույնը + հիպոսուլֆիտ	$4,0 \pm 0,06$ [m] $P < 0,001$ $A=18$	80
Նույնը + քլորոպրեն	$1,0 \pm 0,03$ [m] $P < 0,001$ $n=18$	20
Նույնը + հիպոսուլֆիտ + քլորոպրեն	$0,8 \pm 0,06$ [m] $P < 0,001$ $n=18$	16

Աղյուսակ 2-ի տվյալներից երևում է, որ երկարատև քլորոպրենային թունավորումը բերել է նշված ֆերմենտների ակտիվության անկման, ցիտրուլինի ելքը հասցնելով 80%-ի: Հիպոսուլֆիտի ավելացումը ոչ մի ազդեցություն չի ունեցել և ֆերմենտների ակտիվությունը մնացել է նույն մակարդակի վրա: Քլորոպրենի ուժեղ ճնշող ազդեցությունն արտահայտվել է նաև այս դեպքում: Քլորոպրենային թունավորումից հետո մինչև 80% ճնշված ֆերմենտների վրա in vitro ավելացնելով քլորոպրեն, դրսևորվել է նրա երկրորդ ազդեցությունը, ակտիվությունն իջեցնելով մինչև 20%-ի: Քլորոպրենի և հիպոսուլֆիտի համակցությունը ոչ միայն չի բարձրացրել ակտիվությունը, այլև ավելի է իջեցրել այն, հասցնելով 16-ի:

Հետաքրքրական է նշել, որ նույն քանակությամբ քլորոպրենը նորմալ առնետների դեպքում ֆերմենտների ակտիվությունն իջեցրել է ավելի ուժեղ (ելքը 10%), քան երկարատև քլորոպրենային թունավորման ենթարկված առնետների մոտ (ելքը 20%): Այդ հանգամանքը մենք դիտում ենք որպես թունավոր նյութի նկատմամբ օրգանիզմի պաշտպանողական ունակցիա: Հավա-

նական է, որ այդ դեպքում ստեղծվում են հատուկ մեխանիզմներ, որոնք հակադրում են բլորոպրենին և նրա ներգործությունը մեղմացնում: Այդ ֆոնի վրա հիպոսուլֆիտի ոչ յուրահատուկ ազդեցությունը նույնպես պիտի բացատրել այդ սխեմաների ներգործությամբ:

Երևանի բժշկական ինստիտուտ,
բիոքիմիայի ամբիոն

Ստացվել է 27. XII 1966 թ.

Г. В. МАТИНЯН

ДЕЙСТВИЕ ХЛОРОПРЕНА И ГИПОСУЛЬФИТА НА АКТИВНОСТЬ ОРНИТИНТРАНСКАРБАМИЛАЗЫ И КАРБАМИЛ-ФОСФАТСИНТЕТАЗЫ

Р е з ю м е

Глубокие изменения белкового обмена при хлоропреновом отравлении и быстрое восстанавливающее действие гипосульфита [4, 5] нас заставили изучить механизм действия этих веществ в белковом обмене. В этой области нами был изучен механизм действия данных веществ на катепсиновые [6], трансаминазные [7] ферменты и на глицинооксидазы. Так как мочевинообразовательный цикл является конечным этапом белкового обмена, представляет интерес изучить механизм действия данных веществ и в этой области. Значение такого изучения увеличивается еще и тем, что мочевина образуется в печени, а печень при хлоропреновом отравлении страдает в наибольшей степени, тогда как гипосульфит быстро восстанавливает все ее функции [8].

Опыты были поставлены на «промытый осадок» нормальных и отравленных хлоропреном белых крыс, по методу Каравака [11]. «Промытый осадок» по автору содержит преимущественно митохондрии. Хлоропреновое отравление проводилось ежедневно 2 ч., дозой 8 мг/л, продолжительностью 3—3,5 мес. В общем объеме опыта в 3,5 мл, прибавлялись все необходимые вещества для образования цитрулина, количество которого определялось колориметрическим методом Арчибальда [10]. В некоторые опыты прибавлялись 0,1 мл хлоропрена и 25 микромоль гипосульфита.

У нормальных крыс из орнитина получается 100% выход цитрулина, который под действием гипосульфита немного понижается (выход 94%), под действием хлоропрена понижается очень сильно (выход 10%), а при комбинации хлоропрена с гипосульфитом выход восстанавливается до 84% (табл. 1).

У отравленных крыс активность ферментов понижена до 80% по сравнению с нормальными. Гипосульфит в этом случае не оказывает никакого влияния, а хлоропрен сильно понижает активность до 20%. Сочетание хлоропрена с гипосульфитом еще больше понижает активность и выход цитрулина доходит до 16%.

Эти данные показывают, что при длительном отравлении в организме вырабатываются особые механизмы защиты по отношению к хлоропрену, и поэтому у отравленных крыс понижение активности ферментов меньше (20%), чем у нормальных крыс (10%).

Գ Ր Ա Շ Ա Ն Ո Ւ Ք Յ Ո Ւ Ն

1. Аветисян Н. О. Материалы XVI выездной научной сессии, Ереван, 1968.
2. Браунштейн А. Е., Северина И. С. и Бабская Ю. Е. Биохимия, **21**, 6, 1956.
3. Бунятян Г. Х. и Давтян М. А. Вопросы биохимии мозга (Ереван), **1**, 1964.
4. Մատինյան Հ. Վ. Հայկ. ՍՍՀ Գիտ. ակադ., Տեղեկագիր (բիոլ. գիտ.) **10**, **6**, 1957:
5. Մատինյան Հ. Վ. Հայկ. ՍՍՀ Գիտ. ակադ., Զեկույցներ, **24**, **1**, 1957:
6. Մատինյան Հ. Վ. Հայկ. ՍՍՀ Գիտ. ակադ., Տեղեկագիր (բիոլ. գիտ.) **14**, **8**, 1961:
7. Մատինյան Հ. Վ. Հայկ. ՍՍՀ Գիտ. ակադ., Հայաստանի կենսաբանական հանդես, **19**, **8**, 1966.
8. Մատինյան Հ. Վ. Հայկ. ՍՍՀ Գիտ. ակադեմ. Տեղեկագիր (բիոլ. գիտ.), **12**, **6**, 35—42, 1959:
9. Мхитарян В. Г. Известия АН АрмССР (биол. науки), **13**, **9**, 65—74, 1960.
10. Archibald R. J. Biol. Chem., **158**, 121, 1944.
11. Caravaca, Josefina and Grisolia, Santiago, J. Biol. Chem., **235**, 684, 1960.