

УДК 615.355.577.351

ТОРМОЖЕНИЕ ВКЛЮЧЕНИЯ Н³-ТИМИДИНА РАКОВЫМИ КЛЕТКАМИ ЧЕЛОВЕКА ПОД ВЛИЯНИЕМ АРГИНАЗЫ

М. А. ДАВТЯН, Ж. К. АСЛАНЯНЦ, Н. Х. АЛЧУДЖЯН, Я. В. ДОБРЫНИН

Проведено испытание на биологическую активность аргиназы печени быка и изоферментов аргиназы печени крысы. Дан сравнительный анализ их цитотоксического эффекта, исследованного на клеточных линиях рака человека: карциномы яичников—CaOv, карциномы поджелудочной железы—CaPa, рака шейки матки—HeLa.

Ключевые слова: цитотоксичность, противоопухолевая активность, изоферменты аргиназы, клеточная культура.

Согласно данным литературы, печеночный экстракт из различных видов животных, добавленный к тканевым культурам фибробластов, саркомы Йенсена или в ростовую среду с нормальными клетками печени и почек, равно как к культуре клеток млекопитающих, трансформированных ЗТЗ, и нормальных, вызывает торможение роста указанных культур тканей и клеток [6, 11, 12]. Это явление связывалось с наличием в печеночных экстрактах аргиназы (L-аргининамидиноурео-гидролазы КФ 3. 5. 3. 1). Инкубирование клеток лимфосаркомы мышей L-5178J и L-1210 с аргиназой печени быка и крысы вызывает в течение 24 ч 100%-ное разрушение этих клеток в результате снижения концентрации аргинина в среде (ниже 8 мкмоль на 1 л среды) [14]. Рост гепатомы Новикова лимфобластомных клеток L-5178Y и HeLa в культуре обратимо тормозится при отсутствии аргинина в среде или при добавлении аргиназы печени быка к полноценной ростовой среде [15].

Большинство авторов объясняют токсическое действие аргиназы на опухолевые клетки или на рост нормальных клеток расщеплением ею аргинина, который необходим для роста клеток млекопитающих, в том числе и клеток человека в культуре [7—10]. Предполагается использовать аргиназу в терапии миелоидного лейкоза, подобно тому как применяется L-аспарагиназа при лечении лимфом, поскольку обнаружено, что под влиянием аргиназы мышинные миелоидные клетки изменяются и морфологически становятся схожими с макрофагами и гранулоцитами—присутствие аргинина в среде препятствует такой дифференцировке [13].

Однако до сих пор не исследовано действие изоферментов аргиназы на злокачественные новообразования. А это представляется важным, так как, согласно новым данным, эти белки отличаются по своему метаболическому назначению: один из них участвует в уреогенезе, а другой распространен повсеместно и имеет общебиологическое значение [4]. С этой точки зрения изучение влияния изоферментов аргина-

зы на опухолевые процессы предполагает в дальнейшем их дифференцированное использование в лечебной практике.

Исходя из вышеизложенного, мы поставили цель изучить влияние изоферментов аргиназы печени крысы, а также аргиназы печени быка на клеточные культуры рака человека и провести сравнительный анализ их активности.

Материал и методика. Изоферменты аргиназы печени крысы были выделены и очищены (препараты взяты после гельфильтрации) по ранее разработанной методике [3]. Удельная активность 1 изофермента составляла 3500 МЕ/мг белка, а 2 изофермента—1540 МЕ/мг белка. Использовалась аргиназа печени быка фирмы «Реанал» (ВНР). Биологическая активность препаратов исследовалась на монослойных культурах рака человека: CaOv—карцинома яичников, CaPa—карцинома поджелудочной железы, HeLa—рак шейки матки.

Рост клеточных культур осуществлялся на среде № 199 с добавлением 10% от объема среды сыворотки крупного рогатого скота с мономицином (100 ед./мл). Инкубационная взвесь содержала около 100 тыс. клеток на 1 мл среды. Препараты в дозе 50 МЕ/мл среды Игла добавляли к клеткам после отмыва их от среды № 199 и инкубировали в течение 24 ч. Инкубация с меткой проводилась в термальной комнате при 37° в течение часа [1, 2].

Цитотоксический эффект препаратов определяли по уровню включения клетками меченого предшественника синтеза ДНК— H^3 -тимидина, который определяли радиометрически [5]. Измерение радиоактивности проводили сцинтилляционным счетчиком «Интертекник».

Данные опыта обрабатывались статистически и достоверными принимались результаты при $P \leq 0,05$.

Работа проводилась в лаборатории клеточной фармакологии Всесоюзного онкологического научного центра АМН СССР.

Результаты и обсуждение. Результаты определения чувствительности к аргинину трех клеточных культур (инкубация в среде с нормальной и удвоенной концентрацией аргинина) показали, что все они реагируют на содержание данной аминокислоты в среде (табл. 1).

Таблица 1
Определение чувствительности клеточных культур CaOv, CaPa и HeLa к избытку аргинина в среде Игла (время инкубации—24 ч)

Условия опыта	Включение H^3 -тимидина	
	расп./мин	% от контроля
CaOv (контроль)	2035±577	100
CaOv + избыток аргинина	2895±494	140
CaPa (контроль)	1601±512	100
CaPa + избыток аргинина	3266±430	204
HeLa (контроль)	1200±288	100
HeLa + избыток аргинина	1382±364	138

Это совпадает с данными литературы о чувствительности клеток млекопитающих в отношении аргинина [15].

Добавление к среде с исследуемыми опухолевыми клетками как аргиназы печени быка, так и изоферментов аргиназы печени крысы вызвало торможение синтеза ДНК, т. е., как и следовало ожидать, арги-

нинчувствительность клеточных культур совпадала с их чувствительностью к аргиназе. Помимо того, что ингибирующее влияние препаратов аргиназы на синтез ДНК в зависимости от культур было различным, наблюдались различия и в степени биологической активности аргиназы печени быка и аргиназы печени крысы (табл. 2). Как видно из

Таблица 2

Торможение включения H^3 -тимидина под влиянием аргиназ в клеточных культурах CaOv, HeLa и CaPa

Условия опыта	Включение H^3 -тимидина	
	расп./мин	% от контроля
CaOv (контроль)	2035±574	100
CaOv + аргиназа (ВНР)	689±89	34
CaOv + 1 изофермент аргиназы	1346±407	66
CaOv + 2 изофермент аргиназы	381±74	19
HeLa (контроль)	1200±228	100
HeLa + аргиназа (ВНР)	654±184	54
HeLa + 1 изофермент аргиназы	455±122	38
HeLa + 2 изофермент аргиназы	279±50	23
CaPa (контроль)	1601±542	100
CaPa + аргиназа (ВНР)	1146±253	71
CaPa + 1 изофермент аргиназы	1831±261	114
CaPa + 2 изофермент аргиназы	484±40	45

таблицы, по цитотоксическому эффекту 2 изофермент аргиназы печени крысы превосходил остальные препараты при испытании всех трех культур. Так, на клеточной культуре CaOv он тормозил включение H^3 -тимидина вдвое активнее, чем аргиназа печени быка, и втрое активнее, чем 1 изофермент. На клеточной культуре HeLa 2 изофермент был цитотоксичнее, чем 1 изофермент в 1,6 и в 2,4 раза, чем аргиназа печени быка. В случае с клеточной культурой CaPa он также активнее подавлял синтез ДНК, чем препарат из печени быка (в 1,7 раза), в то время как 1 изофермент не проявил цитотоксичности вообще.

Полученные данные свидетельствуют о том, что существует определенная специфичность во влиянии аргиназ из различных объектов на рост и развитие клеточных культур и ее нельзя объяснить лишь расщеплением аргинина среды. Вероятно, такая специфика обусловлена либо их неодинаковой стабильностью в среде, либо особенностями взаимодействия с клетками культуры (адсорбция на клеточной мембране и пр.). Дальнейшие исследования должны внести ясность в рассмотренные здесь вопросы.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии

Поступило 25.VI 1981 г.

ՄԱՐԻՈՒ ՔՍԼՅԿԵՂԱՅԻՆ ԲՁԻՋՆԵՐՈՒՄ Ի³-ՏԻՄԻԴԻՆԻ ՆԵՐԳՐԱՎՄԱՆ
ԱՐԳԵԼԱԿՈՒՄԸ ԱՐԳԻՆԱԶԱՅԻ ԱԶԿԵՑՈՒԹՅԱՄԲ

Մ. Ա. ԳԱՎԹՅԱՆ, Ժ. Կ. ԱՍԼԱՆՅԱՆՅ, Ն. Խ. ԱԼՉՈՈԴՅԱՆ, ՑԱ. Վ. ԴՈԲՐԻՆԻՆ

Հետազոտվել է տարբեր օբյեկտներից անջատված արգինազայի յիտո-տոքսիկ ազդեցություները մարդու քաղցկեղային բջիջների վրա: Բերված են համեմատական ուսումնասիրության արդյունքները:

INHIBITION OF H³-THIMIDINE INCORPORATION IN HUMAN
CANCER CELLS UNDER ARGINASE EFFECT

M. A. DAVTIAN, J. K. ASLANIANTZ, N. Kh. ALCHOODJIAN, I. V. DOBRININ

The biological activity of rat liver arginase isoenzymes and beef liver arginase on human cancer cells has been studied.

The differentiation in the inhibition of incorporation of H³-thymidine in human cancer cells induced by used arginases has been shown.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Асланянц Ж. К., Добрынин Я. В. Биолог. ж. Армении, 32, 912, 1979.
2. Асланянц Ж. К., Давтян М. А., Добрынин Я. В., Степанян К. Р. Биолог. ж. Армении, 33, 1284, 1980.
3. Давтян М. А., Алчуджян Н. Х. Сб. Биологии, 1, 92, Ереван, 1979.
4. Давтян М. А., Бунятян Г. Х. Вопросы биохимии мозга, 3, 273, Ереван, 1967.
5. Добрынин Я. В., Монатова Т. И., Кондрагьева Н. А. Лабор. дело, 3, 143, 1974.
6. Burch S. J. Simon-Reuss J. Bioch. Biophys. Acta, 11, 396, 1953.
7. Eagle H. Science, 130, 432, 1959.
8. Eagle H. J. Biol. Chem., 214, 839, 1955.
9. Eagle H., Oyama V. Levym. Arch. Biochem., 67, 432, 1957.
10. Fisher G. A., Sartorelli A. S. B. B. Res. Comm., 52, 245, 1964.
11. Holley R. W. Bioch. Biophys. Acta, 145, 535, 1967.
12. Lieberman F., Ove B. Bioch. Biophys. Acta, 33, 153, 1960.
13. Okafe J., Hloriaki B. B. Res. Comm., 89, 3, 1979.
14. Storr J. M., Burtou A. F. Br. J. Cancer, 30, 50, 1974.
15. Umeda M., Makoto, Dirlinger A. CIsr. Med. of Science, 4, 1216, 1968.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 4, 1982

УДК 612.843.14

О ВЛИЯНИИ УРОВНЯ ОСВЕЩЕННОСТИ НА ПОТОК
³H-ТАУРИНА ИЗ ИЗОЛИРОВАННОЙ СЕТЧАТКИ ЛЯГУШКИ
RANA RIDIBUNDA

Ж. Э. АРУՅՈՆՅԱՆ, А. М. ПЕТРОСՅԱՆ

Исследовалось влияние изменения уровня освещенности на поток ³H-таурина из изолированной сетчатки лягушки. Установлено, что выход меченого таурина из сетчатки кратковременно усиливается при переходе от почти полной темноты к постоянной освещенности 200 люкс; при затемнении, т. е. при переходе от освещенности ~ 0,05 люкс к темноте, заметных изменений не наблюдается.

Ключевые слова: сетчатка, таурин, выход радиоактивности.