

ՄԱՐԻՈՒ ՔՍԻՑԿԵՂԱՅԻՆ ԲՁԻՋՆԵՐՈՒՄ Ի<sup>3</sup>-ՏԻՄԻԴԻՆԻ ՆԵՐԳՐԱՎՄԱՆ  
ԱՐԳԵԼԱԿՈՒՄԸ ԱՐԳԻՆԱԶԱՅԻ ԱԶԿԵՑՈՒԹՅԱՄԲ

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

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

INHIBITION OF H<sup>3</sup>-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 H<sup>3</sup>-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., Бунятыан 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. V. 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  
<sup>3</sup>H-ТАУРИНА ИЗ ИЗОЛИРОВАННОЙ СЕТЧАТКИ ЛЯГУШКИ  
RANA RIDIBUNDA

Ж. Э. АРУՄՅՈՆՅԱՆ, А. М. ПЕТРОСՅԱՆ

Исследовалось влияние изменения уровня освещенности на поток <sup>3</sup>H-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.

Таурин,  $\text{NH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—SO}_3\text{H}$ , структурно простая аминокислота, составляет более 50% фонда свободных аминокислот сетчатки позвоночных [7, 13]. Однако роль этой аминокислоты как в фоторецепторах, где сконцентрировано 50—70% общего ее количества [7, 13], так и в других структурах сетчатки до сих пор остается невыясненной. Таурин вызывает более быстрые, обратимые изменения электрической активности сетчатки при значительно меньшей концентрации, чем предполагаемые тормозные медиаторы сетчатки—гамма-аминомасляная кислота и глицин [5]. В отличие от этих аминокислот повышение концентрации ионов калия в межклеточной среде мало [4] или вообще не влияет на выход меченого таурина из сетчатки [3]. С другой стороны, при электрическом раздражении сетчатки выход последнего резко увеличивается [3] и почти в три раза превышает уровень выхода меченой гамма-аминомасляной кислоты [5]. Установлено также, что выход таурина из сетчатки при освещении усиливается у цыплят [8], кошек, крыс [10] и у кролика [6]. В аналогичных условиях из изолированной сетчатки лягушки усиления выхода меченого таурина не обнаружено [3]. В отличие от этого в работе Салкеда и др. освещение усиливало выход меченого таурина из фракции наружных сегментов сетчатки лягушки [9]. Исходя из изложенного, мы сочли необходимым детально исследовать влияние освещения на выходящий из сетчатки лягушки поток меченого таурина. Кроме того, сделана попытка исследовать влияние затемнения на выход таурина из сетчатки.

*Материал и методика.* Опыты проводили на лягушках *Rana ridibunda* (в апреле—мае), которых адаптировали к темноте при комнатной температуре 19—20° в течение 12—36 ч. Затем при темно-красном освещении их декапитуировали, после удаления глаз разрезали по экваторной линии и выделяли сетчатку в холодном буфере. Остальные процедуры проводили при слабом белом освещении ( $\sim 0,05$  люкс). Изолированную сетчатку переносили в сосуд, содержащий 5 мл буфера. В опытах использовался модифицированный Krebs-Рингер бикарбонатный буфер следующего состава (в мМ):  $\text{NaCl—105}$ ,  $\text{NaHCO}_3\text{—22}$ ,  $\text{KCl—4,2}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{—1}$ ,  $\text{CaCl}_2\text{—2,2}$ ,  $\text{MgSO}_4\text{—1}$ , глюкоза—5 [12]. В течение опыта буфер насыщался смесью газов  $\text{O}_2$  и  $\text{CO}_2$  (95%:5%). В разных опытах pH буфера колебался в пределах 7,2—7,5. После 10-минутной преинкубации сетчатку переносили в раствор, содержащий 1 мкКюри/мл  $^3\text{H}$ -таурина в концентрации  $10^{-7}$  М с удельной активностью 17,6 Кюри/мМ (Amersham, Англия) и немеченый таурин (Sigma, США) в концентрации  $3 \times 10^{-6}$  М, и инкубировали 60 мин. Затем ее промывали два раза по 3 мин в свежем холодном буфере, не содержащем таурин, и переносили в перфузатор [1]. Перфузию проводили со скоростью 1 мл/мин. В буфер для перфузии добавляли немеченый таурин в концентрации  $3 \times 10^{-6}$  М. Пробы собирали на коллекторе фракций в течение 1 мин через соответствующие интервалы. Сетчатка затемнялась при помощи черного колпачка, надеваемого на перфузатор. Пробы собирали при темно-красном освещении. Освещенность на сетчатке более 200 люкс получали при помощи осветителя ОИ-19. Для тепловой защиты применяли светофильтр СЗС-14. Уровень радиоактивности в пробах определяли на сцинтилляционном спектрометре SLL-221 (Intertechnique, Франция) по программе, предусматривающей счет  $^3\text{H}$  с применением внешнего стандарта и пересчетом имп./мин в расп./мин. Эффективность счета составляла 95%. В качестве сцинтилляционной жидкости применяли сцинтиллятор Брея. Для определения коэффициента захвата сетчатку после инкубации взвешивали, затем солубилизировали в 200 мкл протозола (New England Nuc. Cog, США) при 50°. Окрашенный раствор обесцвечивали, добавляли сцинтиллятор на основе толуола (PPO/POPOP, как 4/0,1) и измеряли радиоактивность.

*Результаты и обсуждение.* О степени поглощения  $^3\text{H}$ -таурина изолированной сетчаткой лягушки можно судить по величине коэффициента захвата. Коэффициент захвата—отношение радиоактивности, накопленной в мг ткани, к радиоактивности в мл инкубационной среды—оказался равным  $7 \pm 0,97$  ( $n=4$ ). Результаты исследования выходящего потока радиоактивности из изолированной сетчатки при освещении  $\sim 0,05$  люкс представлены на рис. 1. Принимая величину радиоактивности (распады/минута) пробы перфузируемой жидкости, взятой

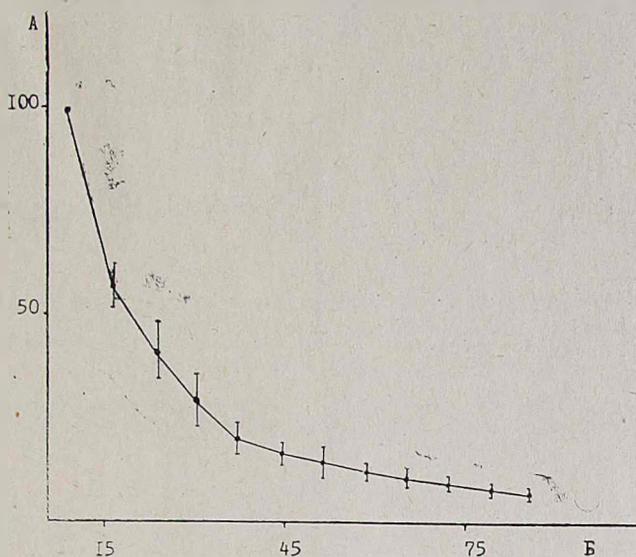


Рис. 1. Выходящий из изолированной сетчатки лягушки поток радиоактивности при фоновом освещении  $\sim 0,05$  люкс; А—относительная радиоактивность, %, Б—время, мин (данные 4 опытов).

на 10-й мин. за 100%, радиоактивность остальных проб, как относительную радиоактивность, выражали через эту величину. При исследовании влияния изменения уровня освещенности на выходящий поток радиоактивности были взяты пробы перфузируемой жидкости начиная с 79 мин от начала перфузии. При этом обратный захват выходящего  $^3\text{H}$ -таурина подавлялся путем добавления к перфузируемой жидкости немеченого таурина в концентрации  $3 \times 10^{-6}$  М. После затемнения сетчатки наблюдаются неравномерные колебания выходящего потока радиоактивности. При освещении сетчатки, т. е. при переходе от темноты к сильному постоянному освещению, наблюдается кратковременный, но сильный выброс радиоактивности с последующими небольшими колебаниями. Величина амплитуды пика выходящего потока радиоактивности превышает престаимуляционный уровень в 2—3 раза (рис. 2). В целом из 10-ти экспериментов в 6-ти получено резкое увеличение выходящего потока радиоактивности, а в 4-х заметного увеличения не обнаруживалось, что можно объяснить, по-видимому, различным функциональным состоянием сетчатки.

По данным Кеннеди и Вуден, 95% захваченного  $^{35}\text{S}$ -таурина в сетчатке лягушки после двухчасовой инкубации не подвергается ме-



таболизму [3]. В соответствии с последним, выходящий поток радиоактивности и его изменение в нашем эксперименте почти полностью следует отнести за счет неметаболизированного таурина. В таком случае на наших данных следует, что затемнение не приводит к заметному изменению выхода таурина из сетчатки лягушки (рис 2). Однако

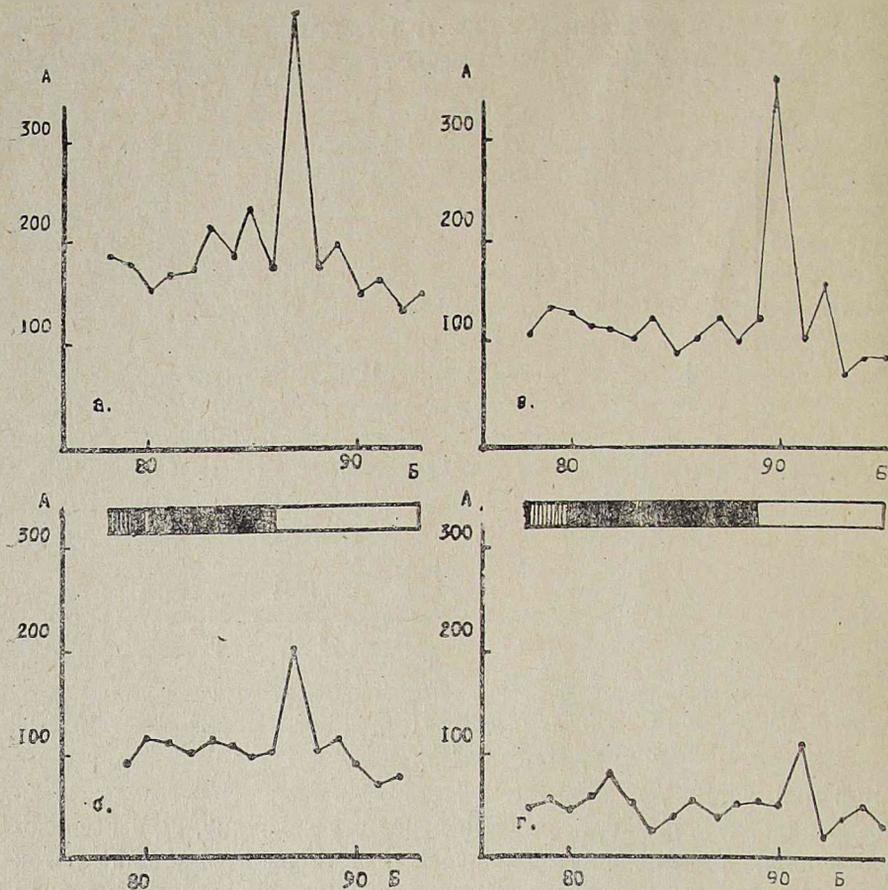


Рис. 2. Влияние уровня освещенности на поток радиоактивности из изолированной сетчатки лягушки. а, б, в, г— результаты единичных опытов.

А—радиоактивность, рас./мин, Б—время, мин  $\square$  ~ 0,05 люкс,  $\blacksquare$  — темнота,  $\square$  — 200 люкс.

при освещении наблюдается значительное усиление последнего (рис 2). Возникает вопрос, из каких именно структур сетчатки происходит усиление выходящего потока таурина при освещении. В связи с этим очевидна необходимость установления структур сетчатки, в которых накапливается меченый таурин. По данным, полученным методом радиоавтографии [3] и послойного анализа [2], меченый таурин в концентрации  $10^{-4}$ — $10^{-5}$  М накапливается в основном в телах амакриновых клеток и во внутреннем синаптическом слое сетчатки лягушки. В отличие от этого при концентрации  $10^{-6}$  М меченый таурин, по данным послойного анализа, накапливается преимущественно в слое фоторецепторных клеток [11]. Последнее подтверждается в работе Сал

кеда и др. [9], где установлено, что меченый таурин в концентрации  $10^{-7}$  М усиленно накапливается в изолированных наружных сегментах палочек сетчатки лягушки. Поскольку в нашей работе при захвате таурина его концентрация составляла  $10^{-6}$  М то, вероятно, он преимущественно накапливается в слое фоторецепторов. В таком случае можно предположить, что наблюдаемое в нашем эксперименте усиление выходящего потока таурина при освещении происходит из наружных сегментов фоторецепторов сетчатки. При этом, как механизм, так и значение этого явления нуждаются в выяснении [7]. В отличие от наших результатов отсутствие усиления выхода меченого таурина из сетчатки лягушки при освещении в работе Кеннеди и Вуден [3] можно объяснить либо тем, что в этом случае мало накопилось таурина в фоторецепторах, либо, возможно, потерей наружных сегментов в ходе эксперимента [9].

Институт биохимии АН Армянской ССР

Поступило 20.V 1981 г.

ԼՈՒՍԱՎՈՐՎԱԾՈՒԹՅԱՆ ՄԱԿԱՐԴԱԿԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԳՈՐՏԻ  
(RANA RIDIBUNDA) ՄԵԿՈՒՍԱՑՎԱԾ ՑԱՆՑԱԹԱՂԱՆԹԻՑ  
ՅH-SUՌԻՐԻՆԻ ԵՆՆՈՂ ՀՈՍՔԻ ՎՐԱ

ժ. է. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Ա. Մ. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ

Միջավայրում առկա նշված  $^3\text{H}$ -տաուրինի կլանման հետևանքով ցանցաթաղանթում դրա զգալի կուտակումը զուգորդվում է այդ ամինաթթվի ցանցաթաղանթից ելնող հոսքի հետ: Հորվածում բերված են գորտի մեկուսացված ցանցաթաղանթից ելնող այդ հոսքի վրա լույսի ներգործման հետազոտմանը նվիրված որոշ արդյունքներ: Գրեթե լրիվ մթուժյան մեջ գտնվող ցանցաթաղանթը 200 կուրս ուժգնության լույսով լուսավորելիս դիտվում է ցանցաթաղանթից ելնող  $^3\text{H}$ -տաուրինի հոսքի կարճատև ուժեղացում: Ի տարբերություն դրա մեր փորձերում միջնեցման դեպքում ցանցաթաղանթից տաուրինի ելնող հոսքի փոփոխություն չի նկատվել:

THE ACTION OF ILLUMINATION LEVEL ON THE EFFLUX  
OF  $^3\text{H}$ -TAURINE FROM THE ISOLATED FROG RETINA  
(RANA RIDIBUNDA)

J. E. HARUTUNYAN, A. M. PETROSYAN

The action of illumination level changes on the efflux of  $^3\text{H}$ -taurine from isolated frog retina has been studied. When retina loaded with  $^3\text{H}$ -taurine is stimulated by continuous light the efflux of radioactivity increase significantly within short period of time. However, the efflux is not elicited by cessation of illumination.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арутюнян Ж. Э., Геворкян Г. А., Петросян А. М. Журн. эвол. биохимии и физиологии, 5, 1981.

2. Bonaventure N. & Wioland N. *Docum. Ophthal. Proc. Series*, 15, 251—255, 1978.
3. Kennedy & Voaden M. J. *J. Neurochem.*, 27, 131—139, 1976.
4. Lopez-Colome A. M., Salceda R. & Pasantes-Morales H. *Neurochem. Res.*, 3, 431—441, 1978.
5. Mandel P., Pasantes-Morales H. & Urban P. F. In: *Transmitters in the visual process*, Pergamon Press, ed. by Bonting S. L., 89—105, 1976.
6. Neal M. J., Collins G. G., Massey S. C. *Neuroscience Letters*, 14, 241—245, 1976.
7. Orr H. T., Cohen A. J. & Lowry O. H. *J. Neurochem.*, 26, 609—611, 1976.
8. Pasantes-Morales H., Kleithi J., Urban P. E. & Mandel P. *Exp. Brain Res.*, 19, 131—142, 1974.
9. Salceda R., Lopez-Colome A. M. & Pasantes-Morales H. *Brain Res.*, 155, 186—191, 1977.
10. Schmidt S. Y. *Exp. Eye Res.*, 26, 529—535, 1978.
11. Starr M. S. *Brain Res.*, 151, 604—608, 1978.
12. Voaden M. J., Marshall J. & Murani N. *Brain Res.*, 67, 115—132, 1974.
13. Voaden M. J., Lake N., Marshall J. & Merjaria B. *Exp. Eye Res.*, 25, 249—257, 1977.

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

УДК 577.152:611.61

## УЧАСТИЕ РАЗЛИЧНЫХ МОДУЛЯТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ГЛУТАМИНАЗЫ ПОЧЕК И РОЛЬ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В ЭТОМ ПРОЦЕССЕ

Ж. Дж. СААКЯН, В. С. ОГАНЕСЯН

Тиреоидные гормоны и их производные, являясь эффективными активаторами глутаминазы митохондриальной фракции почек крыс, в то же время значительно потенцируют стимулирующее действие фосфата и других модуляторов этого фермента. Эффект потенцирования проявляется в различной степени и зависит как от характера применяемых тиреоидных соединений, так и от природы второго модулятора. При сочетании применения фосфата с цитратом, сукцинатом,  $\alpha$ -кетоглутаратом и аспаратом потенцирования не наблюдается. Тиреоидные гормоны и их производные занимают важное место в процессе регуляции активности глутаминазы почек.

*Ключевые слова:* глутаминаза, тиреоидные гормоны, почки.

В регуляции активности фосфатзависимой глутаминазы (ФЗГ), которая содержится во многих тканях животного организма, исключительно важное значение имеют низкомолекулярные соединения различной природы [2, 5, 7, 11—13, 15—17]. Для глутаминазы мозга и почек наиболее эффективными активаторами являются макроэрги, кофакторы и гормоны [2, 7, 11—13, 15, 17]. Действие тиреоидных гормонов (ТГ) на активность глутаминазы митохондриальной фракции мозга изучено достаточно детально. Они являются аллостерическими эффекторами и играют особую роль в процессе регуляции активности глутаминазы мозга. Примечательно, что ТГ, являясь сильными активаторами глутаминазы мозга, в то же время значительно усиливают действие фосфата ( $\Phi_n$ ) и ряда других модуляторов [4, 6, 7], между тем как под действием 3,3',5-трийодо-L-тиронина ( $T_3$ ) и его производных активность печеночной глутаминазы