

CONTENT AND HOLDER OF AMINO ACIDS OF BRAIN UNDER THE INFLUENCE OF MINERAL BATHS OF "ARZNI" RESORT

In experiments on rats it is shown that "Arzni" carbon dioxide mineral baths increase in the brain tissue the content of neuroactive amino acids—aspartate and glutamate and inhibit greatly the process of their reverse holder.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. А. Мирзоян, Т. Г. Мовсесян, А. Т. Карагян *Вопр. курортологии*, 1980, 4, стр. 10.
2. Balke V. S., Johnston G. A. R. *J. Neurochem.*, 19, 2657.
3. Fagg G. E. and Lane J. D. *Neuroscience, Letters*, Number 8, 1015—1036, 1979.
4. Iversen Z. Z., Neal M. J. *J. Neurochem.*, 15, 1141, 1968.
5. Logan W. S., Snyder S. H. *Brain Res.*, 42, 413—431, 1972.
6. Matsuda J. J. T. W., Roberts E. J. *Biochem.*, 243, 3029, 1973.
7. Neal M. J., Iversen Z. Z. *J. Neurochem.*, 16, 1245, 1969.

УДК 616.831+616—099—057]:678

Г. С. ХАЧАТРЯН, А. А. АКОПЯН, М. Х. АДАМЯН

АКТИВНОСТЬ ТРАНСКЕТОЛАЗЫ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ПРИ ДЕЙСТВИИ ПОЛИАМИНОВ

Изучение активности транскетолазы в головном мозге выявило достоверное снижение ее при внутрицистернальном введении полиаминов. Обсуждается возможная роль полиаминов в качестве природных ингибиторов активности ключевых ферментов гексозомонофосфатного шунта.

За последние годы были предприняты многочисленные исследования с целью выяснения роли полиаминов в метаболизме полимеров и других соединений [7, 8, 11, 12]. Ряд данных указывает на специфическую роль спермидина, спермина и их предшественника путресцина в процессе клеточного роста, пролиферации [4, 5, 11] на взаимодействие между ними и нуклеиновыми кислотами [14].

Полиамины усиленно синтезируются и накапливаются в тканях при любом росте—эмбриогенезе, регенерации, злокачественных образованиях [4, 5, 11, 15]. Известно, что спермидин и спермин *in vitro* активируют синтез ДНК, катализируемый ДНК-полимеразой [13]. Введение путресцина в цистерны мозга крыс приводит к ускорению включения (^{14}C) уридина в РНК ткани головного мозга [10].

Учитывая, что гексозомонофосфатный шунт (ГМШ) является одним из основных поставщиков пентозофосфатов, необходимых для биосинтеза нуклеиновых кислот, а, следовательно, белков, мы, изучив различные этапы регуляции этого пути [2, 3], остановились также на изучении активности транскетолазы (2.2.1.2 седогептулозо-7-фосфат: D-глицеральдегид-3-фосфат-глицольальдегидтрансфераза), катализирующей превращение изомерных фосфопентоз под влиянием полиаминов.

Опыты ставили на белых крысах-самцах массой 130—150 г. Животным внутрибрюшинно (в/б) вводили путресцин, спермидин, спермин по 50 и 100 мкг при экспозиции 30 и 60 мин. В указанные сроки исследования животных замораживали в жидком азоте. Последующие операции проводили в холодильной комнате при $\pm 2^{\circ}\text{C}$. Транскетолазу выделяли по методу Novello и McLean [9]. Мозговую ткань, предварительно очищенную от крупных сосудов и оболочек, гомогенизировали в пятикратном объеме холодного 1 мМ трис-НСl буфера, pH 7,6, в течение 2 мин, затем центрифугировали при 2000 g в течение 30 мин при 0°C . Полученную надосадочную жидкость фракционировали дважды сульфатом аммония (50, 70% насыщения). Далее осадок, полученный после центрифугирования при 2000 g и 0°C в течение 15 мин, растворяли в 3 мл 0,01 М фосфатного буфера, pH 7,6, прибавляли 0,04 мл ацетата натрия и проводили ацетоновое фракционирование при -20°C . Полученную суспензию центрифугировали при 10000 g и 0°C в течение 2 мин, затем осадок растворяли в 2 мл 0,01 М фосфатного буфера, pH 7,6, и добавляли кальций-фосфатную гель, приготовленную по Keilin и Hartee [7], которую осаждали центрифугированием при 3500 об. и 0°C в течение 15 мин. Полученный ферментный раствор использовали для определения активности транскетолазы по методу Dische [6]. Сущность метода заключается в том, что седогептулозо-7-фосфат (С-7-Ф), синтезированный выделенным и очищенным нами ферментом—транскетолазой, под влиянием концентрированной серной кислоты превращается в соответствующую фурфураль, которая соединяется с сульфгидрильной группой цистеина с образованием окрашенного продукта. Количество последнего определяется спектрофотометрическим методом при 506 и 540 нм. Разница оптической плотности используется для количественного определения гептоз, ибо пентозы и гексозы в этом интервале дают незначительную разницу в оптической плотности.

Инкубационная смесь состояла из 0,1 мл транскетолазы, полученной из мозга крыс, 0,001 мл 2 мМ рибозо-5-фосфата, 0,001 мл 1 мМ ксилулозо-5-фосфата и 0,898 мл трис-НСl буфера, pH 7,6.

За единицу активности фермента принимали то количество транскетолазы, которое катализировало реакцию образования 1 мМ С-7-Ф в течение 10 мин при 30°C в трис-НСl буфере, pH 7,6. Удельную активность выражали числом единиц ферментативной активности на мг белка.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 приведены данные удельной активности на различных этапах очистки транскетолазы мозговой ткани. Из данных таблицы видно, что в результате проведенной очистки активность фермента значительно повышается (в 326 раз).

Установив определенный уровень активности фермента на различных этапах его очистки, мы приступили к изучению действия полиаминов. Результаты по изучению активности транскетолазы под влиянием полиаминов в мозге крыс представлены в табл. 2, 3, 4.

Таблица 1
Этапы очистки и удельная активность транскетолазы
мозга крысы

Фракции	Удельная актив- ность в мкМ С-7-Ф/мг белка/10 мин
Гомогенат	4,05
70 % аммоний сульфатный надосадоk	5,05
Ацетоновая фракция	13,3
Са-фосфатная гель-элюат	1321,4

Таблица 2
Активность транскетолазы в мозге крыс в мкМ С-7-Ф/мг белка/10 мин

Контроль		Путресцин			
		50 мкг		100 мкг	
		30 мин	60 мин	30 мин	60 мин
М ± m	1321,4 ± 13,6	296,9 ± 11,81	161,5 ± 3,98	292,2 ± 12,89	323,3 ± 10,8
п	12	9	9	9	9
σ	±47,30	±35,42	±11,94	±38,67	±32,56
P		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Из данных табл. 2 следует, что в/ц введение путресцина приводит к резкому понижению активности фермента.

Аналогичные данные мы получали при в/ц введении других полиаминов: спермидина, спермина (табл. 3, 4).

Таблица 3
Активность транскетолазы в мозге крыс в мкМ С-7-Ф/мг белка/10 мин под влиянием спермидина

Показа- тели	50 мкг		100 мкг	
	30 мин	60 мин	30 мин	60 мин
М ± m	371,5 ± 13,8	299,6 ± 12,8	630 ± 6,9	248,3 ± 10,8
п	9	9	9	9
σ	±41,5	±38,4	±20,9	±32,6
P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Сотрудниками нашей лаборатории были исследованы изменения содержания различных классов РНК (я-РНК, т-РНК, р-РНК) под влиянием полиаминов. Установлено, что в/ц введение полиаминов приводит к увеличению содержания различных форм РНК в головном мозге крыс. Как показывают наши данные, на этом фоне активность транскетолазы резко падает. Возможно, что ингибирование активности транскетолазы временно задерживает взаимопревращение пентозофосфатов и на-

правляет их в путь биосинтеза нуклеотидов, а, следовательно, и нуклеиновых кислот. Эти вопросы станут предметом специальных исследований.

Регуляция активности ферментов пентозного цикла и других метаболических путей может осуществляться также на уровне гормонов и внутриклеточных медиаторов. Внутриклеточные медиаторы и гормоны могут влиять на активность ферментов посредством субстратной активации, а также изменением концентрации положительных и отрицательных модуляторов. Одним из возможных путей регуляции активности ферментов под влиянием указанных веществ является изменение проницаемости клеточных мембран, а также контроль активного транспорта отдельных метаболитов.

Таблица 4
Активность транскетолазы в мозге крыс в мкМ С-7-Ф/мг белка/10 мин под влиянием спермина в концентрации 100 мкг

Показатели	30 мин	60 мин
$M \pm m$	$294 \pm 15,5$	$644,7 \pm 8$
n	13	9
σ	$\pm 55,9$	$\pm 24,0$
p	$< 0,001$	$< 0,001$

На основании полученных нами данных приходим к заключению, что полиамины (путресцин, спермидин, спермин) могут являться ингибиторами ключевых ферментов пентозофосфатного пути. Как большие, так и малые концентрации испытанных нами полиаминов, введенных в/з за 30 и 60 мин до исследования, вызывают торможение активности транскетолазы. Не исключена возможность, что полиамины могут являться природными ингибиторами ключевых ферментов ГМШ, что будет предметом наших дальнейших исследований.

НИЛ биосинтетических реакций мозга
Ереванского медицинского института

Поступила 17/VII 1981 г.

Գ. Ս. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ, Ա. Ա. ՀԱԿՈՅԱՆ, Մ. Խ. ԱԴԱՄՅԱՆ

ՏՐԱՆՍԿԵՏՈԼԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ԳԼԽՈՒԴԵՂՈՒՄ ՊՈԼԻԱՄԻՆՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ԴԵՊԵՆՏ

Ուսումնասիրված է ամոնիումի սուլֆատի 50 և 70% հազեցվածության պայմաններում նստեցված, և ապա ացետոնով ու Са-ֆոսֆատային զելի վրա ադսորբցիայով անջատած տրանսկետոլազի ակտիվությունը ուղեղի հյուսվածքում: Ցույց է տրված տրանսկետոլազի ակտիվության հավաստի իջեցում պոլիամինների (պուտրեսցին, սպերմին, սպերմիդին) ներքիստերնալ ներարկման դեպքում:

Քննարկվում է պոլիամինների հնարավոր դերը՝ որպես հեքսամինոֆոսֆատային շղթայի հանգուցային ֆերմենտների բնական արգելակիչ:

G. S. KHACHATRIAN, A. A. HAKOPIAN, M. Kh. ADAMIAN

ACTIVITY OF TRANSKETOLASE IN THE BRAIN UNDER THE INFLUENCE OF POLYAMINES

The study of the transketolase activity in the brain has revealed its significant decrease in intracisternal injection of polyamines.

The possible role of polyamines, as of natural inhibitors of the key ferments' activity of the brain is discussed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Антонян А. А., Алавердян А. А. и др. Тез. научн. сообщений IV Всесоюзного биохим. съезда. Л., 1979, стр. 178.
2. Хачатрян Г. С. Биохимия головного мозга. Ереван, 1967.
3. Хачатрян Г. С., Акопян А. А., Казарян А. Р. Биол. ж. Армении, 1981, 12, стр. 89.
4. Bachroch U. Function of Naturally Occurring Polyamines, New York, 1973.
5. Cohen S. S. Introduction to the Polyamines, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, 1971.
6. Dische Z. J. Biol. Chem., 204, № 2, 983—997, 1953.
7. Kellin D., Hartree E. F. Proc. roy. Soc. B. 124, 397, 1938.
8. Moruzzi G. et al. Moll. Cell. Biochem., 3, 2, 153, 1973.
9. Novello F., McLean P. The Bloch. J., № 107, 6, 775—791, 1968.
10. Reynold A. F., Russell D. Brain Res., 61, 452—455, 1973.
11. Russell D. H. Polyamines in normal and neoplastic growth, Raven Press, N. Y., 1973.
12. Sellar N, Lamberty U. J. Neurochem., 24, 5, 1975.
13. Shonen Y. et al. J. Biochem., 79, 5, 895—901, 1976.
14. Stevens L. Biol. Rev., 45, 1, 1970.
15. Tabor C. W. Annual Rev. Biochem., 49, 285—306, 1976.

УДК 616.36:613.63

А. В. АЗНАУРЯН, Л. А. ЕНГИБАРЯН

ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ ВЕЩЕСТВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ПРОИЗВОДСТВЕ КОНДЕНСАТОРОВ, НА ПЕЧЕНЬ ЖИВОТНЫХ ПО ДАННЫМ Н³-ТИМИДИНОВОЙ РАДИОАВТОГРАФИИ

Проведено авторадиграфическое исследование по изучению влияния производственной среды конденсаторов в условиях высокогорья на печень крыс. Показано, что после временной активизации синтетической функции ядер гепатоцитов начинается подавление синтеза ДНК в них, а у стромальных клеток активизация синтеза ДНК приобретает прогрессирующий характер.

Предыдущие наши исследования по изучению влияния производственной среды некоторых рабочих участков в условиях высокогорья на внутренние органы крыс в эксперименте выявили значительные структурные изменения в печени, сердце и легких [1].

В настоящем исследовании была предпринята попытка в вышеуказанных условиях проследить динамику гистоавторадиграфических изменений, которые возникают в печени, так как печень как ведущий орган метаболизма более четко отражает воздействие токсических веществ [5].

Материал и методика

Опыты проводились на белых беспородных крысах линии Вистар массой 160—180 г. Животных в течение 4 месяцев ежедневно по 6 часов