

УДК 576.356

ЭМБРИОЛОГИЯ

Л. Н. МАРКОВА, Г. А. БУЗНИКОВ, Н. А. МУХИНА,
Ю. И. СМУШКЕВИЧ, Н. Н. СУВОРОВ

**ДЕЙСТВИЕ ПРОДУКТОВ ЭНЗИМАТИЧЕСКОГО ПРЕВРАЩЕНИЯ
ТРИПТАМИНА НА ОПЛОДОТВОРЕННЫЕ ЯЙЦЕКЛЕТКИ
МОРСКИХ ЕЖЕЙ**

(Представлено академиком Б. Л. Астауровым 9 II 1971)

Ряд моноаминов дает при окислительном дезаминировании факторы, блокирующие деление оплодотворенных яйцеклеток морских ежей (^{1, 2}). Эти факторы обладают очень высокой цитотоксической активностью и в то же время действуют специфично. Поэтому представляло интерес установить их химическую природу.

В ходе реакции окислительного дезаминирования биогенных моноаминов образуются альдегид, перекись водорода и аммиак. В дальнейшем альдегид может восстанавливаться в спирт, окисляться в кислоту или, в некоторых случаях, конденсироваться с недезаминированными молекулами моноамина (^{3, 4}). Любой из перечисленных продуктов дезаминирования, в принципе, мог оказаться идентичным цитотоксическому фактору. Для его идентификации наиболее удобным было а) испытание соответствующих химически чистых веществ на оплодотворенных яйцеклетках; б) создание условий, исключающих образование или присутствие того или иного продукта окислительного дезаминирования в исследуемом инкубате.

Опыты проводили на оплодотворенных яйцеклетках *Strongylocentrotus nudus*, *S. intermedius* (Японское море) и *S. dröbashiensis* (Баренцево море). В качестве источника моноаминоксидазы (МАО) использовали митохондрии печени крысы, выделенные по методу Шнайдера (⁵). Активность МАО определяли колориметрическим методом (⁶). Навеску лиофилизированных митохондрий гомогенизировали в морской воде и инкубировали с триптамином в течение 10 мин., после чего центрифугировали (9000 об/мин, 10 мин.). То, что в качестве исходного амина был выбран триптамин, по-видимому, исключало возможность образования продукта конденсации, аналогичного описанному (⁴). Полученным центрифугатом, взятым в различных разведениях, обрабатывали оплодотворенные яйцеклетки. Исходная концентрация триптамина в инкубационной смеси была равна $5 \cdot 10^{-5}$ г/мл, активность МАО 2,5 усл. ед./мл. Действие центрифугата сравнивали с действием ряда химически чистых препаратов. Используемый в наших опытах индолил-3-ацетальдегид был синтезирован по методу Грэя (⁷). В связи с нестойкостью этого препарата мы использовали его в большинстве опытов в виде бисульфитного производного. В отдельных опытах применяли свободный индолил-3-ацетальдегид. Триптофол синтезировали по методу Шнайдера и Пилгрима (⁸). Кроме того, в опытах был использован триптофол фирмы «Regis» (Чикаго), любезно предоставленный нам В. З. Горкиным. Об эффективности центрифугата и чистых препаратов судили по их влиянию на деления дробления; в отдельных опытах исследовали также влияние этих веществ на биосинтез белков *in vivo*.

Полученный описанным выше способом центрифугат обладал высокой цитотоксической активностью. Он полностью блокировал клеточные деления, будучи взят в количестве 0,3—0,4 мл на 1 мл раствора. Цитотоксиче-

ский фактор сохраняется и при лиофилизации центрифугата, хотя активность этого фактора снижается примерно вдвое. Цитотоксическое действие как исходного, так и лиофилизированного центрифугата было обусловлено наличием какого-то фактора, возникшего при окислительном дезаминировании триптамина, поскольку предобработка МАО соответствующими ингибиторами делала центрифугат неактивным. Сохранение специфической активности центрифугата, наблюдаемое после лиофилизации, позволило исключить из числа возможных цитотоксических факторов перекись водорода.

Выделяющийся в ходе реакции аммиак мог сохраниться в лиофилизированном препарате только в виде какой-либо соли аммония. Поэтому мы

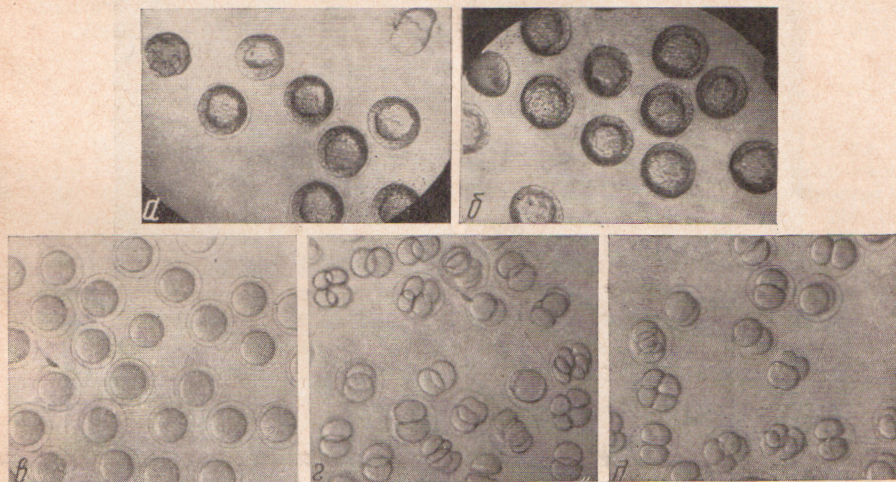


Рис. 1. Действие индолил-3-ацетата натрия ($5 \cdot 10^{-5}$ г/мл) (а), индолил-3-ацетальдегида ($7,5 \cdot 10^{-6}$ г/мл) (в) и триптофол ($5 \cdot 10^{-5}$ г/мл) (г) на оплодотворенные яйцеклетки морских ежей. б — контроль для а (морская вода); г — контроль для в и г (морская вода). а, б — *S. nudus*; в, г, д — *S. intermedius*

проверили действие хлористого аммония на оплодотворенные яйцеклетки. В концентрациях $2 \cdot 10^{-5}$ — $5 \cdot 10^{-5}$ г/мл эта соль не блокировала образования первой борозды дробления и не оказывала заметного влияния на дальнейшее развитие. Неактивным по отношению к развивающимся яйцеклеткам оказались также триптофол и индолил-3-ацетат натрия (рис. 1). В концентрациях $5 \cdot 10^{-5}$ — $1 \cdot 10^{-4}$ г/мл эти препараты не влияли на ход клеточных делений.

Что же касается индолил-3-ацетальдегида, то он оказался очень активным блокатором делений дробления. Бисульфитное производное альдегида в концентрациях $5 \cdot 10^{-6}$ — $7,5 \cdot 10^{-6}$ г/мл останавливает клеточные деления (рис. 1, 2). При концентрации альдегида, равной $2,5 \cdot 10^{-6}$ г/мл, около половины подопытных яйцеклеток не дробилось, а остальные дошли до стадии средней бластулы; вылупления не наблюдалось. Можно полагать, что истинная эффективная концентрация препарата была ниже, так как мы имели дело с веществом, содержащим примесь бисульфита натрия. Действовал же при этом именно индолил-3-ацетальдегид; бисульфит натрия ($1 \cdot 10^{-5}$ г/мл) сам по себе никакого влияния на развитие не оказывает. Свободный индолил-3-ацетальдегид оказался намного активной бисульфитного производного. Он вызвал полную блокаду делений дробления, будучи взят в концентрации $2 \cdot 10^{-8}$ г/мл. При концентрациях $2 \cdot 10^{-9}$ — $5 \cdot 10^{-9}$ г/мл наблюдалось торможение развития.

Поскольку в центрифугате могли присутствовать одновременно и триптофол и индолилацетальдегид, мы проверили действие смеси этих ве-

ществ на оплодотворенные яйцеклетки. Было обнаружено, что триптофол не усиливает действия индолил-3-ацетальдегида.

Таким образом, из всех продуктов, могущих образовываться при окислительном дезаминировании триптамина, цитотоксической активностью обладает только индолил-3-ацетальдегид. Представляло интерес сравнить эффекты, наблюдаемые при действии этого препарата и при действии центрифугата. Сразу обращает на себя внимание высокая активность, наблюдаемая в обоих случаях. Много общего наблюдалось и в характере действия индолил-3-ацетальдегида и центрифугата. Оба они блокировали деление оплодотворенных яйцеклеток на стадии внесения. В обоих случаях

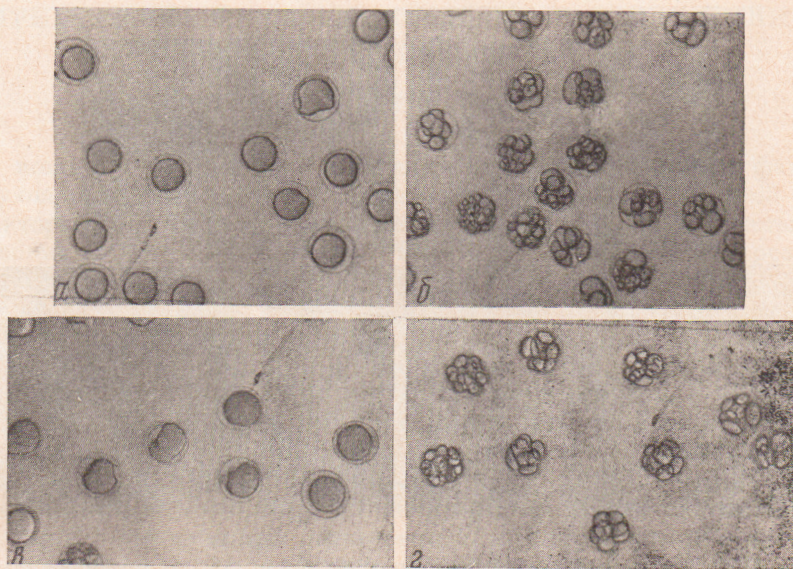


Рис. 2. Влияние отмывки морской водой на эффекты, вызванные центрифугатом и индолил-3-ацетальдегидом. *а* — центрифугат (0,3 мл в 1 мл раствора), без отмывки; *б* — то же, с отмывкой; *в* — индолил-3-ацетальдегид (бисульфитное производное) $7,5 \cdot 10^{-6}$ г/мл, без отмывки, *г* — то же, с отмывкой

наблюдалась хорошая обратимость действия этих веществ. На рис. 2 показаны результаты опыта с отмывкой оплодотворенных яйцеклеток от индолил-3-ацетальдегида и центрифугата. Яйцеклетки *S. intermedius* были помещены в растворы препаратов через 5 мин. и отмыты морской водой через 2 час. 30 мин. после оплодотворения (в опыте к моменту отмывки не было дробления, в контроле наблюдалась стадия 4—8 бластомеров). Фотосъемка была проведена через 5 час. 30 мин. после оплодотворения. Видно, что после отмывки большинство яйцеклеток начинает дробиться, хотя и аномально. В дальнейшем дробление наблюдается почти у всех подопытных яйцеклеток и развитие доходит до стадии бластулы. Отмывка морской водой эффективна и при более длительном сроке обработки яйцеклеток препаратами. Отмытые после шестичасовой обработки индолил-3-ацетальдегидом яйцеклетки все еще обнаруживали способность к дроблению.

Добавим, что судя по результатам изотопных опытов, блокада клеточного деления как при действии индолил-3-ацетальдегида, так и при действии центрифугата, не сопровождается специфическим угнетением биосинтеза белков.

Таким образом, мы наблюдаем значительное сходство в действии индолил-3-ацетальдегида и цитотоксического фактора, образующегося при

окислительном дезаминировании триптамина. С другой стороны, остальные продукты, образующиеся при окислительном дезаминировании триптамина, не обладают цитотоксической активностью. Все это позволяет говорить об идентичности рассматриваемого цитотоксического фактора индолил-3-ацетальдегиду. Так как цитотоксические факторы, образующиеся при дезаминировании различных моноаминов, очень сходны по активности и по характеру наблюдаемых эффектов (²), можно предположить, что все эти вещества также являются альдегидами.

В заключение отметим, что представляется очень интересным проверить действие индолил-3-ацетальдегида и других альдегидов, образующихся при окислительном дезаминировании моноаминов, на делящиеся клетки взрослых организмов.

Институт биологии развития
Академии наук СССР
Москва

Поступило
27 I 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Л. Н. Маркова, Цитология, 12, № 2, 204 (1970). ² Л. Н. Маркова, Г. А. Бузников, ДАН, 192, № 5, 1184 (1970). ³ В. З. Горкин, Вопр. мед. хим., 10, № 2, 115 (1964). ⁴ W. Langeneckert, D. Palm, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 260, 400 (1968). ⁵ W. C. Schneider, J. Biol. Chem., 176, 259 (1948). ⁶ В. З. Горкин, Ж. И. Акопян и др., Вопр. мед. хим., 14, № 5, 538 (1968). ⁷ R. A. Gray, Arch. Biochem. and Biophys., 81, 480 (1959). ⁸ H. R. Snyder, F. J. Pilgrim, J. Am. Chem. Soc., 70, 3770 (1948).