

Mar ia SZWAJ

Wpływ niektórych amin aromatycznych i heterocyklicznych na zawartość glicyny radioaktywnej w komórkach raka Ehrlicha

The Effect of some Aromatic and Heterocyclic Amines on the Content of Radioactive Glycine in the Ehrlich Ascites Tumour Cells

Zawartość serotoniny w płytkach jest wyższa niż w innych składnikach morfotycznych krwi i osocza; stanowiło to podstawę dla licznych badań nad mechanizmem przenikania i wiązania tej aminy (10, 4, 11, 22, 16, 2, 17, 12). Stwierdzono, że wnikanie amin do komórek jest procesem endoergicznym (3, 21) oraz, że związki te mogą wywierać konkurencyjny wpływ na wnikanie aminokwasów do komórek (15).

W poprzedniej pracy przebadano wpływ aminokwasów i ich pochodnych na zawartość glicyny radioaktywnej w komórkach raka Ehrlicha (19). Okazało się, że tryptamina w znacznym stopniu powodowała obniżenie zawartości glicyny komórkowej rozpuszczalnej i związanej. Celem obecnej pracy było zbadanie, czy inne aminy powodują zmiany w stężeniu 1-¹⁴C-glicyny w komórkach raka Ehrlicha i czy są różnice w działaniu amin aromatycznych i heterocyklicznych.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenia przeprowadzono na zawiesinie komórek raka Ehrlicha inkubowanych w roztworze Krebsa-Ringera z dodatkiem radioaktywnej glicyny. Inkubacja trwała 90 minut. Na początku doświadczenia dodawano 16 μ M glicyny radioaktywnej i inkubowano 30 minut. Następnie dodawano aminy (40 μ M) i inkubowano dalsze 30 minut. Po 60 minutach inkubacji dodawano 40 μ M glukozy i inkubowano jeszcze 30 minut. Po każdym 30-minutowym okresie inkubacji pobierano z poszczególnych kolbek erlenmeyera po 2 ml zawiesiny inkubacyjnej do oznaczania glicyny „rozpuszczalnej” i „związanej”. Próbę kontrolną stanowiła próbka inkubowana tylko z glicyną, której ilość impulsów przyjęto za 100%. Dokładny opis doświadczenia podano w poprzedniej pracy (19). W obecnej pracy zastosowano następujące aminy: 1) Tyramina cz. (Firma Fluka), 2) Adrenalina cz. (Gliwice), 3) Normetanefryna (Lab. New York), 4) Histamina cz. (Szwajcaria), 5) Serotonina — siarczan kreatyny (Merck) i 6) Tryptamina HCl (Light).

WYNIKI

Wyniki badań nad wpływem amin aromatycznych i heterocyklicznych na zawartość 1-¹⁴C-glicyny „rozpuszczalnej” i „związanej” w komórkach raka Ehrlicha zestawiono w tab. 1. Wartości te stanowią średnią 5 analogicznych pomiarów.

Tab. 1. Wpływ amin na zawartość 1-¹⁴C-glicyny w komórkach raka Ehrlicha
The effect of amines on the content of 1-¹⁴C-glycine in the Ehrlich ascites tumour cells

Aminy dodawane do środowiska inkubacyjnego	% glicyny rozpuszczalnej		% glicyny związanej	
	czas inkubacji w minutach			
	30	60	30	60
Glicyna (kontrolna)	100	100	100	100
„ tyramina	71,9	46,0	89,8	47,5
„ adrenalina	86,4	100,0	87,5	96,5
„ normetanefryna	85,3	101,2	105,1	79,9
„ histamina	91,3	90,8	90,2	103,5
„ serotonina	78,3	54,0	95,7	61,3
„ tryptamina	39,1	31,2	59,5	41,4

Z tabeli 1 wynika, że dodanie amin aromatycznych (tyraminy, adrenaliny i normetanefryny) do środowiska inkubacyjnego wpływa niejednakowo na zawartość glicyny komórkowej rozpuszczalnej i związanej. Największy wpływ glicyny z komórki (54%) i obniżenie inkorporacji (52,5%) zachodzi w obecności tyraminy. Niewielkie działanie na zawartość glicyny komórkowej wykazywały pozostałe aminy aromatyczne.

Spośród użytych amin heterocyklicznych (tryptaminy, serotoniny i histydyny) największy wpływ glicyny z komórki i obniżenie inkorporacji uzyskiwano po inkubacji z tryptaminą (68,8%, 58,6%). Znaczne obniżenie glicyny komórkowej powodowała serotonina. Natomiast podczas inkubacji z histaminą obserwuje się niewielkie obniżenie glicyny komórkowej rozpuszczalnej (10%).

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

W poprzedniej pracy (19) badano wpływ cysteaminy i tryptaminy oraz aminokwasów na zawartość glicyny radioaktywnej w komórkach raka Ehrlicha. Stwierdzono, że inkubacja z tryptaminą powodowała największy spadek zawartości wewnątrzkomórkowej glicyny rozpuszczalnej i związanej. Podobne wyniki uzyskano w obecnej pracy. Największy wpływ glicyny z komórki i obniżenie inkorporacji powodowała tryptamina (68,8%). Zbliżone wartości otrzymano dla tyraminy (54%) i serotoniny (46%). Jak wiadomo hamujący wpływ na wnikanie glicyny do

komórek mają inne aminokwasy, obecne w środowisku inkubacyjnym (9, 13, 6, 18). Również i wpływ glicyny z komórki podlega działaniu obecnych w środowisku aminokwasów.

W poprzednich badaniach wykazano znaczne obniżenie glicyny komórkowej w obecności aminokwasów alifatycznych, o krótkim łańcuchu (alaniny, seryny, cysteiny i metioniny). Przypuszcza się, że wnikanie aminokwasów do komórek odbywa się przez utworzenie kompleksu aminokwasu z hipotetycznym nośnikiem (5, 7, 8), do którego aminokwas przyłącza się wolną grupą karboksylową, aminową oraz wodorem α (14). Według Christensena w połączeniach z nośnikiem odgrywa decydującą rolę grupa aminowa (6). Silnymi inhibitorami wnikania aminokwasów zasadowych okazały się ich aminy (15). Przypuszcza się, że wnikanie aminokwasów zasadowych polega na powstawaniu wiązań wodorowych między dwoma grupami aminowymi aminokwasów, a grupami reaktywnymi w błonie komórkowej. Konkurencyjne działanie tych amin polega prawdopodobnie na tworzeniu podobnych wiązań.

Przyjmując istotną rolę grupy aminowej w procesie aktywnego wnikania aminokwasów do komórki, można by przypuszczać, że aminy, wnikając łatwo do wnętrza komórki, będą powodowały wypływ radioaktywnej glicyny. Tymczasem spośród zbadanych amin jedynie trzy wykazywały wyraźny wpływ i powodowały obniżenie zawartości glicyny radioaktywnej w komórce. Amina heterocykliczna — histamina, o rdzeniu imidazolowym powodowała niewielkie obniżenie zawartości glicyny komórkowej (10%). Natomiast tryptamina i serotonina — aminy o rdzeniu indolowym powodowały znaczne obniżenie glicyny komórkowej rozpuszczalnej (68,8%, 46%) i związanej (59, 38,7%). Wszystkie trzy wymienione aminy mają taki sam łańcuch boczny, a różnią się jedynie pierścieniem. Być może, że w tym wypadku pierścień lub grupy w nim podstawne (OH serotoniny) wywierają dodatkowe działanie na zawartość glicyny w komórkach raka Ehrlicha. Przemawiałyby również za tym fakt, że spośród trzech przebadanych amin aromatycznych jedynie tyramina wywierała większe działanie, podczas gdy pozostałe aminy nie wykazywały wyraźnego wpływu. Dodanie glikozy do środowiska inkubacyjnego zwiększało wpływ glicyny z komórki w obecności tryptaminy, serotoniny i tyraminy. Można by przypuszczać, że w obecności glikozy wzrasta aktywne wnikanie amin do wnętrza komórkowego, co powoduje zwiększony wypływ glicyny.

Niektóre tkanki i komórki, a w szczególności płytki krwi wykazują szczególną zdolność zagełszczenia amin (1, 20, 11). Wykazano, że akumulacja amin jest procesem aktywnym (10), zależnym od temperatury (2), obecności jonów potasowych (21) i fosforanowych (21, 20). Nie zaobserwowano wyraźnych różnic w działaniu amin aromatycznych i heterocy-

klicznych. Dotychczas nie rozstrzygnięto wpływu działania hamującego amin na wnikanie aminokwasów do komórek. Być może jest to konkurencyjne współdziałanie amin i aminokwasów o miejsce czynne nośnika.

PIŚMIENNICTWO

1. Born G. V. R., Bricknell J.: *J. Physiol.* **147**, 153—161, 1959.
2. Born G. V. R., Gillson R. E.: *J. Physiol.* **146**, 472—491, 1959.
3. Born G. V. R., Ingram G. I. C., Stacey R. S.: *Brit. J. Pharmacol.* **13**, 62—64, 1958.
4. Brodie B. B., Tomich E. G., Kuntzman R., Shore P. A.: *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **119**, 461—467, 1957.
5. Christensen H. N.: *Membrane Transport and Metabolism, Symposia CSAV, Praha 1960*, 465.
6. Christensen H. N., Riggs T. R., Fisher H., Palatire I. M.: *J. Biol. Chem.* **198**, 1—16, 1952.
7. Heinz E.: *J. Biol. Chem.* **211**, 781—790, 1954.
8. Heinz E.: *J. Biol. Chem.* **225**, 305—315, 1957.
9. Heinz E., Walsh P. M.: *J. Biol. Chem.* **233**, 1488—1493, 1958.
10. Hughes F. B., Brodie B. B.: *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **127**, 96—102, 1959.
11. Humphrey J. H., Jacques R.: *J. Physiol.* **124**, 305—310, 1954.
12. Humphrey J. H., Toh C. C.: *J. Physiol.* **124**, 300—304, 1954.
13. Johnstone R. M., Scholefield P. G.: *Cancer Res.* **19**, 1140—1149, 1959.
14. Lin E. E. C., Hagihira H., Wilson T. R.: *Fed. Proc.* **20**, 243, 1961.
15. Mandelstam J.: *Biochim. Biophys. Acta*, **22**, 313—323, 1956.
16. Rand M., Reid G.: *Nature*, **168**, 385, 1951.
17. Riggs T. R., Coyne B. A., Christensen H. N.: *J. Biol. Chem.* **209**, 395—411, 1954.
18. Scholefield P. G.: *Canad. J. Biochem. Biophys.* **39**, 1717—1735, 1960.
19. Sz waj M.: *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, sec. D*, **20**, 61—68, 1965.
20. Weissbach H., Bogdański D. F., Udenfriend S.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **73**, 492—499, 1958.
21. Heissbach W., Redfield B. G., Titus E.: *Nature*, **185**, 99—100, 1960.
22. Udenfriend S., Weissbach H.: *Fed. Proc.*, **13**, 412, 1954.

Pracę otrzymano 15 V 1966.

Влияние некоторых ароматических и гетероциклических аминов на содержание радиоактивного глицина в клетках асцитного рака Эрлиха мышей

Резюме

Исследовали влияние ароматических и гетероциклических аминов на содержание растворимого и связанного $1\text{-}^{14}\text{C}$ -глицина в клетках асцитного рака Эрлиха мышей.

Автор констатировал значительное снижение клеточного глицина после добавления триптамина, серотонина и тирамина.

Наибольшее удаление глицина из клеток, а также снижение инкорпорации вызывал триптамин. Остальные амины не имели большого влияния на содержание клеточного глицина.

Разницы в действии ароматических и гетероциклических аминов не обнаружено.

Табл. 1. Влияние аминов на содержание $1\text{-}^{14}\text{C}$ -глицина в клетках рака Эрлиха мышей.

The Effect of some Aromatic and Heterocyclic Amines on the Content of Radioactive Glycine in the Ehrlich Ascites Tumour Cells

S u m m a r y

The effect of aromatic and heterocyclic amines on the contents of soluble and insoluble $1\text{-}^{14}\text{C}$ -glycine in the Ehrlich ascites tumour cells was investigated.

Examinations showed a marked decrease in the content of cell glycine after incubation with tryptamine, serotonin and tyramine.

The highest efflux of glycine from the cells and the lowest incorporation of this amino acid was observed in the presence of tryptamine.

The effect of the other amines on the efflux of cell glycine was found to be insignificant.

No distinct differences in the influence of aromatic and heterocyclic amines on the content of cell glycine were observed.

