

Ж. А. ЧАЛАБЯН

ВЛИЯНИЕ КОРАЗОЛОВЫХ СУДОРОГ НА НУКЛЕОТИДНЫЙ СОСТАВ ОТДЕЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ РНК БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРОЛИКОВ

Многочисленными исследованиями, проведенными как в отечественных, так и в зарубежных лабораториях, установлена тесная связь содержания и обменяемости РНК мозговой ткани с ее функциональным состоянием. Особенно большие сдвиги в обмене РНК обнаруживаются при нарушении нормального функционирования нервной системы под влиянием судорог, вызванных различными способами [3, 7, 9].

Дальнейшей задачей при выяснении роли РНК в проявлении нервной активности явилось изучение нуклеотидного состава РНК в отдельных участках нервной системы и при различных ее функциональных состояниях.

Этими исследованиями можно установить значение отдельных типов РНК и их взаимосвязь в процессе возникновения деятельного состояния нервной клетки. Однако этот вопрос недостаточно изучен, встречающиеся единичные работы противоречивы [10, 12].

Что касается влияния судорог на нуклеотидный состав РНК и ее отдельные фракции, то таких работ в доступной нам литературе мы не нашли.

Изучение нуклеотидного состава отдельных фракций РНК представляет интерес в связи с наличием в клетке разных по составу и по биологическим значениям РНК, которые на изменение функционального состояния могут реагировать по-разному.

Исходя из этих соображений, мы решили изучить влияние судорог, вызванных введением животным коразола, на нуклеотидный состав фракции РНК больших полушарий головного мозга кроликов.

Методика. Кроликам опытной группы, находившимся на смешанной диете, вводили подкожно коразол 50 мг/1 кг веса животного, а кроликам контрольной группы — дистиллированную воду в соответствующем объеме. Животных убивали обезглавливанием через 50 минут после появления судорог, когда наступало коматозное состояние.

Из больших полушарий головного мозга первую фенольную фракцию РНК выделяли по модифицированному методу Кирби-Георгиева, разделяли ее на высоко- и низкополимерные фракции с помощью высаживания раствором 2.5 М NaCl [1, 2, 4, 8].

Полученные фракции РНК дважды промывали спиртом, а затем гидролизовали в 0,5N NaOH при 37° в течение 18—20 час. Из гидролизата осаждали ДНК добавлением на холоду концентрированной HClO₄.

надосадочную жидкость нейтрализовали 40% КОН, удаляли выпавший осадок KClO_4 и прозрачную жидкость, содержащую нуклеотиды РНК, наносили на хроматографическую бумагу в количестве 30 мкл. Разгонку нуклеотидов проводили методом восходящей хроматографии в растворителе н-бутанолэтанол-4N HCl (1,5 : 1,5 : 1), при комантной температуре в течение 46—48 час. [5].

По окончании хроматографии локализацию пятен выявляли ультрамикроскопом. Пятна вырезали, измельчали и элюировали в течение 18 час., при 37°, раствором 0,1 N HCl (для элюции гуанина использовали 1,0 N HCl). Количество азотистых оснований определялось на спектрофотометре, выражали их в молярных процентах, принимая сумму за 100%.

Результаты исследований обработаны статистически.

Результаты. Нуклеотидный состав РНК первой фенольной фракции, выделенной из больших полушарий головного мозга как контрольной, так и опытной группы кроликов, определяли без разделения на высоко- и низкополимерные фракции.

Таблица 1

Нуклеотидный состав РНК первой фенольной фракции в норме и под воздействием коразоловых судорог (в моль %) (коразол 50 мг на 1 кг веса животного подкожно).

№ опыта	Гуанин	Аденин	Цитозин	Урацил	Г+Ц/А+У
а. контроль					
1	26,5	15,8	37,1	20,5	1,75
2	35,6	21,9	24,8	17,7	1,53
3	33,3	21,3	27,8	17,3	1,58
4	36,1	25,9	25,1	12,9	1,57
5	31,9	13,9	31,2	22,9	1,71
6	29,5	22,5	31,2	16,7	1,55
7	29,3	18,0	32,2	20,4	1,60
8	33,8	20,6	29,4	16,2	1,71
В среднем	32,0±1,18	19,9±1,37	29,8±1,42	18,0±1,09	1,62±0,03
б. коразол					
1	26,2	21,3	29,5	22,9	1,26
2	31,9	19,4	22,8	25,7	1,21
3	30,0	27,2	24,5	18,1	1,20
4	33,3	23,3	26,6	16,6	1,50
5	31,8	23,6	20,0	24,5	1,10
6	29,0	19,3	25,8	25,8	1,21
В среднем	30,3±1,03	22,3±1,09	24,8±1,33	22,2±1,58	1,23±0,025
p+	>0,02	>0,02	<0,05	<0,05	<0,001

+P — достоверность между соответствующими рядами контроля и коразола.

Как видно из данных, приведенных в табл. 1 (часть а), РНК первой фенольной фракции относится к выраженному ГЦ типу и характеризует-

ся некоторым превалированием содержания гуанина над цитозином и аденина над урацилом. Отношение $G+C/A+U$ составляет 1,62, а отношение C/U —1,65, что согласуется с литературными данными [6].

Нас интересовало влияние судорог на нуклеотидный состав этой фракции РНК, которая по скорости обмена, содержанию и нуклеотидному составу соответствует цитоплазматической РНК [4, 6, 8].

Анализируя данные части б табл. 1 и, сравнивая их с первой а, можно заметить, что коразоловые судороги длительностью 50 мин. приводят к глубоким изменениям в нуклеотидном составе РНК этой фракции. Содержание урацила достоверно увеличивается на 23,3%, а цитозина, наоборот, снижается на 16,7%. Количество аденина также увеличивается на 12%, однако эта разница статистически недостоверна.

В результате этих сдвигов отношение $G+C/A+U$ РНК первой фенольной фракции больших полушарий головного мозга снижается на 24%, составляя 1,23. Содержание урацила выравнивается с аденином.

Таким образом, отношение $G+C/A+U$ снижается за счет увеличения содержания урацила и уменьшения цитозина, о чем свидетельствует уменьшение отношения C/U на 32% по сравнению с контрольной группой.

Для дальнейшей характеристики происходящих сдвигов в нуклеотидном составе РНК необходимо было расфракционировать РНК первой фракции на высоко- и низкополимерные фракции. Как уже указывалось, высокополимерная РНК не растворяется в 2,5 М растворе NaCl, тогда как низкополимерная — переходит в надосадочную жидкость, что и служит основанием их раздельного получения. Определение нуклеотидного состава этих фракций РНК у контрольных кроликов не выявило значительных отличий между содержаниями соответствующих нуклеотидов высоко- и низкополимерных РНК. Наблюдающаяся разница между отношениями $G+C/A+U$ статистически недостоверна (части а табл. 2 и 3).

Обращают на себя внимание данные о влиянии коразоловых судорог на нуклеотидный состав высокополимерной РНК, которые показывают, что изменения в первой фракции РНК обусловлены изменениями в высокополимерной РНК. Отношение $G+C/A+U$ высокополимерной РНК у контрольных кроликов составляло 1,53, у судорожных—1,18 (на 22,9% меньше). Это происходит вследствие увеличения урацила на 17,7, уменьшения цитозина на 15,9 и снижения отношения C/U на 30,9%, как и в случае первой фракции (табл. 2).

В нуклеотидном составе низкополимерной РНК в отличие от высокополимерной при коразоловых судорогах особых изменений не обнаруживается, в чем можно убедиться сопоставлением частей а и б табл. 3. Отмечается лишь некоторая тенденция к снижению $G+C/A+U$. Возможно, что оно обусловлено неполным разделением этих двух фракций РНК, т. е. частичным переходом высокополимерной РНК в низкополимерную фракцию.

Таблица 2

Нуклеотидный состав высокополимерной РНК в норме и под воздействием коразоловых судорог (в моль %) (коразол 50 мг на 1 кг веса животного, подкожно).

№ опыта	Гуанин	Аденин	Цитозин	Урацил	Г+Ц/А+У
а. контроль					
1	29,3	24,2	27,1	19,0	1,30
2	28,8	20,6	30,1	20,4	1,44
3	25,8	17,9	31,1	25,1	1,32
4	26,6	15,8	35,5	22,1	1,63
5	35,2	19,7	26,7	16,9	1,69
6	36,8	16,0	26,4	20,8	1,71
7	32,2	27,1	25,4	13,9	1,40
В среднем	30,6±1,59	20,1±1,59	28,9±1,35	18,6±1,44	1,53±0,06
б. коразол					
1	34,0	18,0	24,0	24,0	1,38
2	30,2	19,8	26,4	24,7	1,27
3	28,4	23,9	23,9	23,9	1,09
4	28,6	23,8	23,8	23,8	1,10
5	28,0	26,3	26,3	19,3	1,19
6	33,3	19,3	21,0	26,3	1,19
В среднем	28,7±1,32	22,6±1,37	24,2±0,81	22,6±0,89	1,18±0,044
p ⁺	>0,5	>0,2	*<0,02	<0,05	<0,01

*p — достоверность между соответствующими рядами контроля и коразола.

Суммируя все изложенное, можно заключить, что под влиянием коразоловых судорог изменяется, главным образом, нуклеотидный состав высокополимерной РНК, вследствие чего изменяется состав первой фенольной фракции.

Обсуждение. Результаты проведенных нами исследований свидетельствуют об изменениях количественных соотношений между содержаниями отдельных типов РНК, входящих в состав первой фенольной фракции РНК. Мы уже указывали, что по литературным и нашим собственным данным, РНК первой фенольной фракции в основном соответствует цитоплазмической РНК [4, 6, 8]. Следовательно, описанные процессы разыгрываются в цитоплазме нервных клеток. Снижение отношения Г+Ц/А+У указывает, что при коразоловых судорогах имеет место появление нового типа РНК или, по крайней мере, увеличение содержания уже имеющейся в цитоплазме РНК с низким отношением Г+Ц/А+У. Не исключается возможность распада молекул РНК с высоким отношением Г+Ц/А+У, что может способствовать снижению данного отношения цитоплазмической РНК. Однако это имеет второстепенное значение, так как запасы цитоплазмической РНК при судорогах по-

Таблица 3

Нуклеотидный состав низкополимерной РНК в норме и под воздействием коразоловых судорог (в моль %₀) (коразол 56 мг на 1 кг веса животного, подкожно).

№ опыта	Гуанин	Аденин	Цитозин	Урацил	Г+Ц/А+У
а. контроль					
1	31,9	17,7	33,7	16,6	1,91
2	34,5	20,1	29,1	15,2	1,80
3	34,9	21,7	26,5	16,9	1,59
4	31,5	22,8	28,2	17,4	1,68
5	27,7	16,9	32,3	23,1	1,50
6	27,4	22,9	35,3	14,4	1,68
7	27,7	12,7	37,2	22,2	1,80
В среднем	30,8±1,22	19,2±1,40	31,7±1,48	17,9±1,27	1,68±0,053
б. коразол					
1	27,5	17,5	28,7	26,2	1,29
2	30,4	14,2	32,2	23,2	1,67
3	33,9	22,6	24,2	18,3	1,42
4	33,3	18,5	25,9	22,2	1,45
5	34,4	23,4	28,1	14,1	1,66
6	33,9	19,3	29,0	17,7	1,70
В среднем	32,2±1,11	19,2±1,38	28,0±1,12	20,3±1,79	1,53±0,065
р [†]	>0,2	0	<0,05	>0,2	<0,05

†Р — достоверность между соответствующими рядами контроля и коразола.

полняются за счет перехода рибонуклеопротеидных частиц из ядер в цитоплазму, в которых отношение Г+Ц/А+У ниже, чем в цитоплазмической РНК. Этим явлением следует объяснить сдвиги, происходящие в нуклеотидном составе РНК первой фенольной фракции, при судорогах. В пользу такого допущения говорит относительно высокое содержание урацила и аденина в ядерных фракциях РНК по сравнению с цитоплазмическими, а также превышение содержания урацила над аденином в ядерной РНК [5, 6]. Последнее сказывается в выравнивании содержания урацила с аденином при судорогах. Усиление перехода рибонуклеопротеидных частиц в цитоплазму при возбуждении показано многими авторами [11, 13].

Местный, цитоплазмический синтез РНК не может играть особой роли в изменении нуклеотидного состава РНК цитоплазмы, так как по данным наших предыдущих исследований новообразование РНК в нервных клетках при судорогах резко заторможено [7].

Интересным является тот факт, что новые молекулы РНК обнаруживаются в высокополимерной фракции и характеризуются равными количествами урацила и аденина. Это говорит о том, что данная РНК является высокополимерной и, по-видимому, относится к информацион-

ному типу, так как по нашим, еще неопубликованным, данным в информационной РНК нервной ткани урацил и аденин содержатся в равных количествах. Для дальнейшего изучения этого вопроса необходимо определить нуклеотидный состав отдельных типов РНК, входящих в состав высокополимерной фракции РНК и степень их изменений при судорогах.

В ы в о д ы

Изучено влияние судорог на нуклеотидный состав отдельных фракций РНК, выделенных из больших полушарий головного мозга кроликов. В результате проведенных исследований установлено:

1) под влиянием коразоловых судорог отношение $G+C/A+U$ РНК первой фенольной фракции снижается на 24%, высокополимерной РНК — на 22,9, а низкополимерной — на 8,9;

2) изменения нуклеотидного состава РНК фенольной фракции обусловлены соответствующими изменениями в нуклеотидном составе высокополимерной РНК. В обеих фракциях увеличивается содержание урацила и аденина, а цитозина, наоборот, снижается;

3) переходом ядерных фракций РНК в цитоплазму, по-видимому, следует объяснить сдвиги, происходящие в нуклеотидном составе этих фракций РНК при коразоловых судорогах.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 27.I 1967 г.

ժ. Ա. ՉԱԼԱԲՅԱՆ

ԿՈՐԱԶՈՒԱՅԻՆ ՑՆՑՈՒՄՆԵՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՃԱԳԱՐՆԵՐԻ ԳԼԽՈՒՂԵՂԻ
ՄԵԾ ԿԻՍԱԳՆՂԵՐԻ ՌՆԹ-Ի ԱՌԱՆՁԻՆ ՖՐԱԿՑԻԱՆԵՐԻ
ՆՈՒՎԵՈՏԻԳԱՅԻՆ ԿԱԶՄԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Այս հետազոտության նպատակն է եղել պարզել կորազոլային ցնցումների ազդեցությունը ճագարների գլխուղեղի մեծ կիսագնդերից անջատված ՌՆԹ-ի (սիբոնուկլեինաթթու) նուկլեոտիդային կազմի վրա: Ֆենոլային մեթոդով անջատված ՌՆԹ-ի առաջին ֆրակցիան, որը, համաձայն զրականության է մեր սեփական ավյալների, հիմնականում համապատասխանում է ցիտոպլազմատիկ ՌՆԹ-ին, ցնցումների ազդեցության տակ ենթարկվում է խորը փոփոխությունների. նրա կազմի մեջ ավելանում է ուրացիլի քանակությունը 23,3%, իսկ ցիտոզինի քանակությունը, ընդհակառակը, պակասում է 16,5%: Այս փոփոխությունների հետևանքով փոսնինի և ցիտոզինի գումարի հարաբերությունը ազենինի և ուրացիլի գումարին $G+C/A+U$, որը բնորոշում է ամեն մի ինդիվիդուալ ՌՆԹ-ին, փոքրանում է 24%:

Հաջորդ փորձերում ֆենոլային առաջին ֆրակցիայի ՌՆԹ-ն աղելու միջոցով բաժանել ենք բարձր և ցածր մոլեկուլյար ՌՆԹ-ներին: Այս ֆրակցիոնաց-

ման նպատակն է պարզել, թե ո՞ր ֆրակցիայի նուկլեոտիդային կազմի փոփոխության հետևանքով է փոփոխվում ընդհանուր ցիտոպլազմատիկ ՌՆԹ-ի կազմը ցնցումների ժամանակ: Հայտնաբերված է, որ բարձր մոլեկուլյար ՌՆԹ-ի մոտ $G + 3/U + 1/C$ հարաբերությունը իջնում է 22,9% իսկ ցածր մոլեկուլյար ՌՆԹ-ի մոտ այս հարաբերությունը իջնում է շատ աննշան չափով: Ատաղված փորձնական տվյալների վերլուծությունը հանդեսնում է այն եզրակացությանը, որ ցնցումների ժամանակ ցիտոպլազմատիկ ՌՆԹ-ի բարձր մոլեկուլյար ֆրակցիայում հանդես են գալիս նոր տիպի ՌՆԹ-ի մոլեկուլաներ, որոնք ունեն ցածր հարաբերություն $G + 3/U + 1/C$: Հավանական է, որ սրա պատճառը կորիզային ՌՆԹ-ի որոշ մասի անցումն է դեպի ցիտոպլազմա: Այս ՌՆԹ-ն ունի բարձր մոլեկուլյար բնույթ, քանի որ հիմնական փոփոխությունները հայտնաբերվում են ՌՆԹ-ի բարձր մոլեկուլյար ֆրակցիայում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Георгиев Г. П. и Мантьева В. Л. Биохимия, 25, 143, 1960.
2. Кочерга В. И., Сквирская Э. Б. Укр. биохим. журн., 34, 45, 1962.
3. Палладин А. В. Укр. биохим. журн., 34, 621, 1962.
4. Раменская Г. П., Георгиев Г. П., Мильман Л. С. и др. ДАН СССР, 131, 680, 1960.
5. Сквирская Э. Б. и Бабий Т. П. Укр. биохим. журн., 31, 859, 1959.
6. Сквирская Э. Б. и Бабий Т. П. III Всесоюз. конференц. по биохим. нервной системы. Изд. АН АрмССР, 313, 1963.
7. Чалабян Ж. А. Вопросы биохимии мозга. Изд. АН АрмССР, 1, 157, 1964.
8. Чалабян Ж. А. Укр. биохим. журн., 36, 367, 1964.
9. Ghitre U. S., Chopra S. P. and Talwar G. P. J. Neurochem., 11, 448, 1964.
10. Edstrom J. E., Gram W. J. Neurochem., 12, 735, 1965.
11. Geiger A. S. Arch. Neurol. Psychiat., 75, 442, 1956.
12. Hyden H. and Egyhazi E. Proc., Nat. Acad. Acad. Sci., 52, 1030, 1964.
13. Perry R. P. Proc. Nat. Acad. Sci., 48, 2179, 1962.