

УДК 577.1.612.015.33+577.1.612.8.015

НЕКОТОРЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВЕЩЕСТВА, ВЫДЕЛЯЕМОГО
МОЗГОМ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ГАМК

Б. А. КАЗАРЯН, Л. Г. ЕРОЯН, В. А. ЗАХАРЯН, А. Х. КАСАБЯН

Обнаружен неизвестный полипептид, выделяющийся из мозга через венозную кровь при интракаротидном введении ГАМК комбинированным методом электрофореза и хроматографии на бумаге. Показано, что он состоит из 4-х фракций. Определен суммарный аминокислотный состав этого полипептида.

Одним из существенных открытий за последние два десятилетия можно считать выявление медиаторной роли гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) [1, 2]. У различных представителей животного мира в ЦНС были обнаружены высокие концентрации ГАМК [3, 4]. Надо полагать, что такое количество этой аминокислоты в мозге (16—20 мг%) свидетельствует не только о медиаторной функции ее. Известно, что ГАМК участвует в различных метаболических процессах как в мозге, так и в периферических органах, тем самым определяя те или иные функциональные состояния целостного организма [5].

В предыдущих работах [6] было показано, что в первые минуты после интракаротидного введения ГАМК собакам в венозной крови, оттекающей от мозга, обнаруживается неизвестное полипептидное соединение, движущееся в электрическом поле к катоду.

В настоящей работе мы преследовали цель изучить некоторые характеристики этого соединения.

Материал и методика. Исследования проводились на двух собаках весом 18—20 кг. Животные предварительно оперировались по методике, предложенной Кедровым и сотр. [7]. Эта операция давала возможность проводить исследования в хроническом эксперименте и в заданные промежутки времени изучать артерио-венозную разницу в содержании исследуемого вещества.

Кровь для исследований в количестве 2 мл брали одновременно из общей сонной артерии и наружной яремной вены до опыта и спустя 1—2 мин после введения ГАМК (5 мг/кг веса животного), т. е. во время максимального выброса изучаемого вещества в венозную кровь [6]. Белки крови осаждали абсолютным этиловым спиртом и через час после отстаивания в холодных условиях центрифугировали при 10000 об/мин в центрифуге с охлаждением. Надосадочную жидкость переносили в фарфоровые чашки и выпаривали на водяной бане. Осадок растворяли в 2,5 мл дистиллированной воды и вновь центрифугировали в течение 20 мин. Конечный осадок растворяли в 0,5 мл дистиллированной воды и по 0,1 мл наносили на бумажную электрофоретическую ленту. Электрофорез проводили по методу Грасмана и сотр. [8] в течение 8 час. в пиридин-ацетатном буфере, рН 4,0.

После окрашивания нескольких электрофореграмм 0,5% раствором нингидрина в ацетоне и высушивания их помещали в термостат при температуре 80° на 20 мин для четкого проявления пятен. Из непроявленных лент вырезали полоски бумаги, соответствующие расположению исследуемого вещества на проявленных электрофореграммах, с которых и элюировали его дистиллированной водой. Элюат выпаривали в бюксе до сухого остатка.

Полученный материал подвергали хроматографии по методу Пасхиной [9] на бумаге FV-11 (ГДР) в буфере *n*-бутанол—ледяная уксусная кислота—вода, 4:1:5. Часть материала подвергали кислотному гидролизу в 6 N HCl при 105° в течение 48 часов. После соответствующей обработки и нейтрализации гидролизата проводили хроматографический анализ аминокислот.

Интенсивность окрашивания измеряли на фотоэлектроколориметре при длине волны 530 мкм. Калибровочные кривые строили для каждой исследуемой аминокислоты.

Результаты и обсуждение. Как видно из рис. 1, при интракаротидном введении ГАМК собакам в венозной крови, оттекающей от мозга, обнаруживается нингидринположительное вещество, мигрирующее на электрофореграмме в сторону катода и располагающееся недалеко от

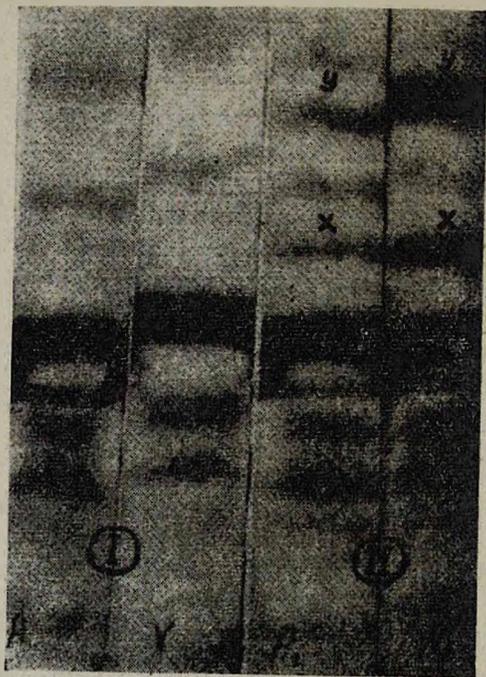


Рис. 1. Электрофореграммы артериальной и венозной крови: I—до введения ГАМК; II—после введения ГАМК; А—артериальная, v—венозная кровь; x—полипептид, y—ГАМК.

стартовой линии. Ранее нами предполагалось [6], что это соединение выделяется мозгом в виде нестойкого комплекса, состоящего из четырех аминокислот, связанных между собой нековалентными связями.

Настоящие исследования показали, что при полном гидролизе исследуемого вещества в 6NHCl оно распадается на ряд аминокислот (рис. 2). Нами было проведено определение процентного содержания аминокислот в полученном гидролизате.

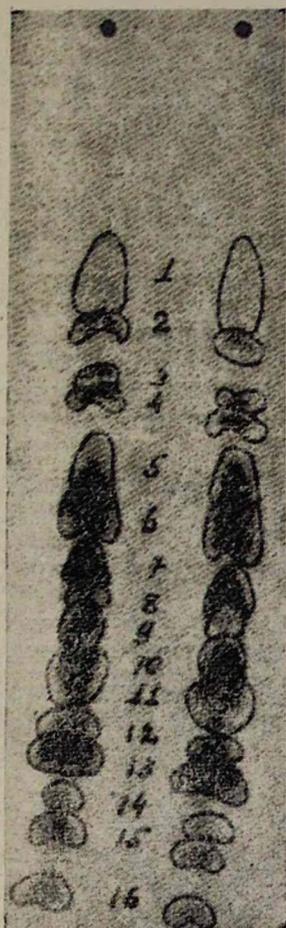


Рис. 2. Хроматограмма аминокислот гидролизата полипептида. 1—цистин с цистеином, 2—лизин, 3—неидентифицированное вещество, 4—пролин, 5—глутамин, 6—аспартат, 7—серин, 8—глицин, 9—глутамат, 10—треонин, 11—аланин, 12—тирозин, 13—ГАМК, 14—фенилаланин, 15—метионин с валином. 16—лейцин с изолейцином.

Из данных приведенной таблицы следует, что в процентном отношении в наибольшем количестве содержится аспартат—10,67, затем тирозин — 8,00, метионин с валином — 7,25, глутамат — 6,25, лизин — 5,25 и ГАМК — 8,67%.

Из названных аминокислот наибольший интерес представляет ГАМК, обнаруженная в полипептиде. Кваме и сотр. [10] показали, что в мозге имеется низкомолекулярный пептид, в состав которого входит ГАМК, отличающийся от обнаруженной нами. Кроме того, в последние годы стало известно, что ГАМК принимает участие в биосинтезе белка в определенных областях мозга [11—13]. Эти данные раскрывают новые ее свойства, наряду с известными медиаторными. Надо полагать, что ГАМК еще и важный фактор в метаболических процессах, играю-

Т а б л и ц а

Аминокислотный состав вингидринположительного соединения, %

Аминокислоты	%
Цистин с цистеином	следы
Лизин	4,25
Неидентифицированное вещество	не определялось
Пролин	не определялось
Глутамин	4,25
Аспарагиновая кислота	10,67
Серин	3,75
Глицин	1,17
Глутаминовая кислота	6,25
Треонин	1,50
Аланин	2,58
Тирозин	8,00
ГАМК	8,67
Фенилаланин	следы
Метионин с валлином	7,25
Лейцин с изолейцином	1,67

щих опосредованную роль в функции ЦНС и непосредственную—в функции периферических органов.

Полученные нами результаты позволяют думать, что интракаротидное введение ГАМК стимулирует выброс в венозный кровоток низкомолекулярного пептидного соединения, состоящего из четырех фракций, лабильно связанных между собой. Не исключена возможность, что в образовании такого рода связи существенную роль играет ГАМК.

Таким образом, обнаруженное нами соединение представляет определенный интерес в аспекте раскрытия новых свойств ГАМК не только в мозге, но и в периферических органах. Предварительные наблюдения показывают, что оно обладает определенной биологической активностью.

В настоящее время проводятся исследования по выяснению характера отдельных фракций выявленного комплексного соединения и его биологической функции в различных органах.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР

Поступило 12.VIII 1977 г.

ԳԱՄՄԱ-ԱՄԻՆԱԿԱՐԱԳԱԹԹՎԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՆԵՐՔՈՒՆԵՐԻ ՍՆՋԱՏՎՈՂ ՆՅՈՒԹԻ ՈՐՈՇ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԲՆՈՒԹԱԳՐՈՒՄԸ

Բ. Ա. ՂԱԶԱՐՅԱՆ, Լ. Գ. ԵՐՈՅԱՆ, Վ. Ա. ԶԱՔԱՐՅԱՆ, Հ. Խ. ՂԱՍԱՔՅԱՆ

Շների մոտ զամմա-ամինակարագաթթվի ներզարկերակային (կարոտիս) ներարկումից հետո, ուղեղից արտահոսվող երակային արյան մեջ հայտնաբերվել է անհայտ բնույթի պոլիպեպտիդային միացություն: Հստ նախնական տվյալների այն բաղկացած է 4 ֆրակցիաներից: Թթվային Կիրրոլիդի միջոցով որոշվել է հայտնաբերված պոլիպեպտիդի ֆրակցիաների ընդհանուր ամինաթթվային կազմը:

SOME PROPERTIES OF THE SUBSTANCE EXCRETING BY THE BRAIN AFTER GABA ADMINISTRATION

B. A. KAZARIAN, L. G. EROIAN, V. A. ZAKHARIAN, H. Kh. KASABIAN

A new polipeptide excreting by the brain through the venous blood after intracarotid administration of GABA has been found. By combined paper-electrophoresis and chromatography it has been shown that it consists of 4 fractions. The total aminoacid composition of this polipeptide has been determined.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Ohata K., Takeda K.* J. Neurochem., 16, 1043, 1969.
2. *Sellstron A., Hamberger A.* J. Neurochem., 24, 847, 1975.
3. *Awapara I., Landua A. I., Fuerst R., Seal B. J.* Biol. Chem., 184, 35, 1950.
4. *Roberts E., Frankel S. J.* Biol. Chem., 187, 55, 1950.
5. *Казарян Б. А.* Докт. дисс., Ереван, 1973.
6. *Казарян Б. А., Гулян Э. А.* Укр. биох. журн., 40, 553, 1968.
7. *Кедров А. А., Науменко А. И., Дегтярева Э. Я.* Бюлл. эксп. биол. и мед., 9, 10, 1954.
8. *Grassman W., Haning E., Plocke M.* Z. phys. chem., 299, 258, 1955.
9. *Пасхина Т. С.* Сб. Совр. методы в биохимии, М., 162, 1964.
10. *Kvamme E., Reichelt K. L., Edminson P. D., Svenneby G., Stinchkin A.* 10 Inter. Congress, FEBS, Paris, 80, 1975.
11. *Sandoval Maria-Elena, Tapia Ricardo.* Brain Res., 96, 279, 1975.
12. *Sandoval Maria-Elena, Paratios Tapia R.* J. Neurochem, 27, 667, 1976.
13. *Snodgras S.* Brain Res., 59, 339, 1973.