

sults of this influence are 1,7—1,9 times more in anterior hypothalamus an in the posterior one.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арутюнян Р. А. Ж. экспер. и клин. медицины АН АрмССР, 23, 18, 3, 1978.
2. Арутюнян Р. А. Биолог. ж. Армении, 95, 32, 2, 1979.
3. Баклаваджян О. Г. Вегетативная регуляция электрической активности мозга. Л., 1967.
4. Гурин В. Н. и др. XII съезд Всесоюзн. физиолог. об-ва им. Павлова, Тбилиси, 1971.
5. Иванов К. П. Биоэнергетика и температурный гомеостазис, Л., 1972.
6. Калинина Н. А., Репин И. С. Физиол. ж. СССР, 54, 11, 1376, 1968.
7. Константинова М. С. Журн. эволюционной биохимии и физиологии, 7, 2, 213, 1971.
8. Оленов С. Н. Развивающийся мозг, Л., 1978.
9. Тонких А. В. Гипоталамо-гипофизарная область и ретикуляция физиол. функций организма. Л., 1965.
10. Якименко М. А., Попова Н. К. Бюлл. экспер. биол. и медицины, 2, 230, 1976.
11. Aschoff J., Weuer R. Water Wissnch., 45, 20, 1958.
12. Anderson B. et al. Acta physiol., Scand., 67, 50, 1966.
13. Bligh J. J. Physiol., 185, 46p., 1966.
14. Bligh J. et al. J. Physiol., (Jn Brit.), 213, 2, 377, 1971.
15. Cooper K. E. et al. J. Physiol., 181, 4, 852, 1965.
16. Feldberg W., Myers R. D. J. Physiol., 177, 235, 1965.
17. Findlay J. D., Thompson G. E. J. Physiol., 194, 3, 809, 1969.
18. Heart J. S. Canad. J. Zool., 30, 90, 1952.
19. Rolph M. J. J. Physiol., 240, 295, 1974.
20. Sawyer C. H. et al. J. Comp. neurol., 101, 3, 801, 1954.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 11, 1982

УДК 591.1.15

АЦЕТИЛИРОВАНИЕ ГИСТОНОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ СОБАК ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ ЦНС

Г. С. ХАЧАТРЯН, М. С. ПЕТРОСЯН

Исследовалось количество ацетильных групп в F1, F2A, F2B, F3 гистоновых фракциях мозга собак в норме и при различных функциональных состояниях ЦНС. Показано, что при пищевом возбуждении количество ацетильных групп F1, F2A, F2B и F3 гистоновых фракций мозга не претерпевает изменений. При условнорефлекторных пищевых возбуждении и торможении наблюдается достоверное повышение количества ацетильных групп во фракциях F2A и F3, а во фракции F2B при условно-пищевом возбуждении—понижение. При условно-пищевом торможении содержание ацетильных групп во фракции F1 H1 также повышается.

Ключевые слова: гистоны, ЦНС, головной мозг.

Гистоны играют важную роль в генетическом аппарате, и процесс репрессии и дерепрессии матричной активности хроматина в основном

связан со специфической модификацией гистоновых фракций, которая осуществляется путем фосфорилирования [26], ацетилирования [23] и других реакций. При различных функциональных состояниях ЦНС в ткани мозга обнаружены изменения метаболизма белков и нуклеиновых кислот [1, 2, 5—7, 8—10, 12—14, 19]. Однако количественная характеристика гистоновых фракций и их модификация в мозге при его функциональной активности исследована недостаточно.

Нами изучалось изменение в содержании ацетильных групп гистонов в норме, при возбуждении и торможении ЦНС, выработанных на базе натуральных пищевых рефлексов.

Материал и методика. Исследования проводились на собаках-самцах массой 4—5 кг в возрасте от 1-го до 2-х лет в четырех сериях экспериментов: контроль, пищевое возбуждение, условнорефлекторное пищевое возбуждение и условнорефлекторное пищевое торможение. Подопытные животные, содержащиеся в одинаковых условиях режима питания во всех сериях экспериментов, были подвергнуты замораживанию в жидком азоте в нужный момент функциональной активности в условнорефлекторной камере, сконструированной в нашей лаборатории и приспособленной для собак [11]. В качестве безусловного раздражителя служило кормление собак мясом из расчета 5 г на 1 кг массы животного; в качестве условного—звучание зуммера. Условный рефлекс вырабатывался по отставленному способу; торможение положительного условного рефлекса—методом угашения.

Для получения гистоновых фракций из мозговой ткани предварительно выделяли ядра по методу Дингмана, Спорна [17], Шово и др. [16]. После каждого выделения чистоту ядер контролировали микроскопически. Отдельные фракции гистонов выделяли по методу Джонса [20]. Экстракцию гистонов проводили в полиэтиленовом сосуде со стеклянными шариками при постоянном встряхивании в 0,25 н HCl и 80%-ном этаноле. Все операции проводили в холодильной комнате при температуре +2°. Для выделения гистонов количество реагентов и осадителей определяли исходя из массы выделенных ядер, по аналогии с тимусом [20].

Хроматографическое выделение для получения чистых гистоновых фракций проводили по Джонсу и Батлеру [21]. В колонку вносили 5—12 мг предварительно выделенного гистона. Для построения калибровочной кривой использовали гистон фракции IIS фирмы «Sigma». В очищенных гистоновых фракциях количество ацетильных групп определяли по методу Филлипса [22]. Для освобождения от неопосвященного ацетата белки растворяли в 0,25 н HCl с последующим осаждением десятью объемами ацетона. Для гидролиза брали 3—8 мг гистона, выделенного хроматографией. Вторичный бутанол, насыщенный 0,05 М фталатым буфером pH 6, пропускали не в нисходящем, а в восходящем направлении [4]. Хроматографию проводили на бумаге Schleicher, Schull № 2043 В. Для построения калибровочной кривой использовали стандартный раствор синтезированного нами ДНФ-гидразида уксусной кислоты.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что количество ацетильных групп в очищенных фракциях гистонов (табл. 1) (во фракции F2B) головного мозга собаки меньше, чем во фракциях F1, F3, F2A. Содержание ацетильных групп во фракциях гистонов мозга возрастает в следующей последовательности: $F2B < F1 < F3 < F2A$. Отметим, что для головного мозга телят и тимуса телят наблюдается несколько иная последовательность: $F2B < F1 < F2A < F3$, $F1 > F2A \geq F2B > F3$ соответственно [4]. По данным литературы, молекулярные массы отдельных фракций гистонов существенно различаются, поэтому по абсолютному содержанию ацетильных групп трудно судить о степени ацетилирования гистоновых фракций. Нами был сделан пересчет числа молей ацетильных групп на 1 моль гистона, результаты которого приведены в

Таблица 1

Количественные сдвиги в содержании ацетильных групп во фракциях гистонов при различных функциональных состояниях ЦНС. $M \pm m$ в мк/моль на 1 г белка

	Ф р а к ц и и				
		F1	F3	F2A	F2B
Контроль	$M \pm m$	101,67 $\pm$ 2,96 (6)	115,25 $\pm$ 2,29 (6)	155,83 $\pm$ 2,83 (6)	91,13 $\pm$ 1,8 (6)
Пищевое возбуждение	$M \pm m$	98,42 $\pm$ 2,43* (5)	115,40 $\pm$ 2,64* (5)	1. 2. 506 $\pm$ 2,497* (5)	89,91 $\pm$ 2,259* (5)
Условно-пищевое возбуждение	$M \pm m$	100,68 $\pm$ 2,39 (5)	142,27 $\pm$ 1,92*** (5)	174,058 $\pm$ 1,997*** (5)	82,376 $\pm$ 3,121** (5)
Условно-пищевое торможение	$M \pm m$	114,72 $\pm$ 2,034** (5)	153,88 $\pm$ 2,26*** (5)	186,92 $\pm$ 2,446*** (5)	87,404 $\pm$ 2,077* (5)

число опытов (n) указано в скобках.

*— $P > 0,05$,

**— $P < 0,01$,

***— $P < 0,001$.

табл. 2. По степени ацетилирования очищенные фракции гистонов головного мозга собаки располагаются в следующей последовательности: $F3 > F2A > F2B = F1$. Аналогичная последовательность в степени ацетилирования наблюдалась и во фракциях гистонов мозга и тимуса телят [4].

Содержание ацетильных групп на 1 г белка во фракции F1 мозга собаки и телят почти одинаково и в среднем составляет $101,67 \pm 3,962$ мкмоль/г гистона, в то время как во фракции F2B оно выше у мозга собаки на 15% [4]. Количество ацетильных групп F2A и F3 мозга собаки больше аналогичных фракций мозга телят на 29 и 16% соответственно. Как видно из приведенных данных, исследованные нами фракции гистонов из головного мозга собаки ацетилированы больше, чем таковые из мозга телят. Так как методика выделения гистоновых фракций в обоих случаях одинакова, по всей вероятности, эти различия связаны не с методикой выделения, а с видовой особенностью животного.

Показано, что аргининбогатые гистоны более модифицированы, чем лизинбогатые, и, что особенно важно, эти фракции обратимо ацетируются после синтеза гистоновых молекул. Этот процесс может играть определенную роль в механизме транскрипции РНК. Особого внимания заслуживает тот факт, что гистоны нейронов ацетируются в 2 раза больше и быстрее, чем гистоны глиальных клеток, причем ацетилированию подвергаются аргининбогатые гистоны [25].

Представляло интерес изучение изменений количества ацетильных групп гистонов мозговой ткани собак при различных функциональных состояниях ЦНС, вызванных естественными раздражителями. Как показывают данные табл. 1, пищевое возбуждение не вызывает изменений в содержании ацетильных групп.

При условнорефлекторном пищевом возбуждении количество ацетильных групп во фракции F1 особых изменений не претерпевает, в то время как во фракции F2B, по сравнению с контролем, происходит некоторое понижение содержания ацетильных групп.

При изучении данных, полученных для фракции F2A и F3, выявилось достоверное повышение количества ацетильных групп. Характерно, что понижение содержания ацетильных групп во фракциях F2B при условнорефлекторном пищевом возбуждении во времени соответствует повышению количества ацетильных групп во фракциях F2A и F3. При условнорефлекторном пищевом торможении, как показывают данные табл. 1, количество ацетильных групп во фракциях F2A и F3 повышается по сравнению и с данными контрольных опытов, и условнорефлекторного пищевого возбуждения. Предполагалось, что направленность сдвигов в содержании ацетильных групп изучаемых нами фракций при торможении будет противоположна возбуждению. Однако нами был установлен однонаправленный эффект в отношении изменений содержания ацетильных групп указанных фракций мозга как при условнорефлекторном возбуждении, так и при условнорефлекторном торможении. Причем во фракциях F2A и F3 при условнорефлекторном пищевом торможении повышение количества ацетильных групп было более выраженным, чем при возбуждении.

Молекулярная масса и степень ацетилирования отдельных фракций гистонов
мозга собак в норме и при различных функциональных состояниях ЦНС

Фракции гистонов	Молекуляр- ная масса гистонов	Масса гистона, содержащего 1 моль ацетильных групп, г			
		Контроль	Пищевое возбуждение	Условно-пище- вое возбужде- ние	Условно-пищевое торможение
F1	12000	9900 (1)*	10204 (1)	10000 (1)	8771 (1)
F2B	13000	10989 (1)	11235 (1)	12345 (1)	11494 (1)
F2A	25000	6451 (4)	6578 (4)	5747 (4—5)	5376 (4—5)
F3	55000	8695 (6)	8695 (6)	7042 (8)	6535 (8—9)

*—В скобках—число молей ацетильных групп на 1 моль гистона

Полученные нами данные об ацетилировании гистоновых фракций в мозге интактных собак в основном согласуются с литературными [3, 4]. Особенно существенными оказались сдвиги в отношении изученных нами аргининбогатых гистонов, уровень ацетилирования которых в мозговой ткани при условнорефлекторном пищевом возбуждении и торможении на 2—3 моля выше уровня контроля.

Головной мозг характеризуется интенсивным синтезом белков и нуклеиновых кислот [5, 12, 13] и, по всей вероятности, регуляция синтеза в мозге указанных биополимеров на уровне транскрипции и трансляции весьма сложная. Известно также, что ацетилирование гистонов протекает с большей интенсивностью в тканях с повышенным уровнем синтеза РНК и что этот процесс предшествует транскрипции [23, 24]. В предыдущих исследованиях нашей лаборатории показано, что при возбуждении и торможении ЦНС, вызванными естественными физиологическими раздражителями, в мозге крыс происходят значительные сдвиги в количественной характеристике различных классов РНК, в том числе и ядерной РНК АУ типа (предшественник информационной РНК) [6].

Совокупность приведенных данных позволяет допустить, что ацетилирование гистонов и синтез РНК, особенно аргининбогатых фракций гистонов, находятся в тесной связи с активацией функции биополимеров генетического аппарата нейронов и нейроглии, направленной на биосинтез нейроспецифических белков, обеспечивающих пластику и функцию клеток головного мозга при различных функциональных состояниях ЦНС.

Ереванский медицинский институт,
лаборатория биосинтетических реакций мозга

Поступило 8.VI 1981 г.

ԿԵԶ ՏԱՐԲԵՐ ՀՈՒՆԿՑԻՈՆԱԿ ՎԻՃԱԿՆԵՐՈՒՄ ՇՆԵՐԻ ԳԼԽՈՒՂԵՂԻ
ՀԻՍՏՈՆՆԵՐԻ ԱՑԵՏԻԼԱՑԻՈՒՄԸ

Գ. Ս. ԽԱԶԱՏՅԱՆ, Մ. Ս. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է շների գլխուղեղի F1, F2A, F2B և F3 հիստոնային
ֆրակցիաներում ացետիլ խմբերի քանակական տեղաշարժերը կենտրոնական

նյարդային համակարգի տարբեր ֆունկցիոնալ վիճակներում: Տույց է տրվել, որ սննդային դրդման ժամանակ ացետիլ խմբերի քանակը F1, F2A, F2B և F3 հիստոնային ֆրակցիաներում չի կրում նկատելի փոփոխություն: Պայմանական սննդային դրդման և պայմանական սննդային արգելակման ժամանակ F2A, և F3 ֆրակցիաներում նկատվել է ացետիլ խմբերի քանակի հավաստի բարձրացում, մինչդեռ F2B ֆրակցիայում պայմանական սննդային դրդման վիճակում տեղի է ունեցել ացետիլ խմբերի քանակի իջեցում: Պայմանական սննդային արգելակման ժամանակ F1 ֆրակցիայում նույնպես դիտվել է ացետիլ խմբերի քանակի բարձրացում:

HISTONE ACETYLATION IN THE DOG BRAIN AT VARIOUS FUNCTIONAL STATES OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

G. S. KHACHATRIAN, M. S. PETROSIAN

The acetyl groups of F1, F2A, F2B and F3 histone fractions have been studied. At the alimentary stimulation the acetyl group content in the mentioned fractions is not subject to any changes. Meanwhile conditionat alimentary stimulation increases the acetyl group content in the F2A and F3 fractions and decreases it in the F2B fraction. The acetyl group content is increased in the F2A, F3 and F1 fractions at the inhibition state too.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алавердян А. А. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1973.
2. Антонян А. А., Алавердян А. А., Саркисян Ф. А., Минасянц Р. Т., Хачатрян В. Г., Оганесян М. Х., Хачатрян Г. С. Тез. IV Всесоюзн. биохим. съезда, 1, 1979.
3. Ашмарин И. П., Садиков Н. В., Дюрнбаум В. И., Степанова И. Укр. биохим. ж., 29, 593, 1967.
4. Мюльберг А. А., Дюрнбаум В. И., Кокряков В. Г., Чихиржина Г. Н., Ашмарин И. П. Биохимия, 35, 4, 815, 1970.
5. Палладин А. В., Белик Я. В., Полякова Н. М. Белки головного мозга и их обмен. 177, Киев, 1972.
6. Саркисян Ф. А. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1973.
7. Хачатрян В. Г. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1975.
8. Хачатрян Г. С., Антонян А. А., Саркисян Ф. А., Алавердян А. А. В кн.: Вопр. биохимии мозга, 9, 151, Ереван, 1974.
9. Хачатрян Г. С., Антонян А. А., Алавердян А. А., Саркисян Ф. А., Минасянц Р. Т. В кн.: Вопр. биохимии мозга, 9, 123, Ереван, 1974.
10. Хачатрян Г. С., Антонян А. А., Алавердян А. А., Саркисян Ф. А., Акопян А. А. В кн.: Вопр. биохимии мозга, 10, 17, Ереван 1975.
11. Хачатрян Г. С. Биохимия головного мозга при нормальных физиол. условиях. Гексозомонофосфатный шунт в мозгу. 72, Ереван, 1967.
12. Хачатрян Г. С. Тез. докл. II Всесоюзн. симп. 15, Ташкент, 1978.
13. Хачатрян Г. С. В кн.: Циклические нуклеотиды, 73, М., 1979.
14. Хиден Х., Ланге П. В. Журн. эволюц. биохим. и физиол., 5, 145, 1969.
15. Butler I. A. V. Ciba Foundation study group, 24, 4, 1964.
16. Chauvean I., Mule Y., Roultier C. Exptl. Cell Res., 11, 317, 1956.
17. Dingman C. W., Sporn M. J. Bioi. Chem., 23, 3483, 1964.
18. Edwards P. A., Shooter K. V. Biochem. J., 120, 61, 1970.
19. Hyden H., Lange P. W. Science, 159, 1370, 1968.
20. Johns E. W. Biochem. J., 92, 55, 1964.

21. Johns E. W., Butler J. A. V. Biochem. J., 82, 15, 1962.
22. Phillips D. M. P. Biochem. J., 87, 258, 1963.
23. Pogo E. G. T., Allfrey V. G., Mirsky A. A. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 55, 805, 1966.
24. Pogo B. G. T., Pogo A. P., Allfrey V. G., Mirsky A. E. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 59, 1337, 1968.
25. Sarkander H. I., Fleischer—Lambropoulos M., Brade W. P. FEBS Lett, 52, 1, 40 1975.
26. Stevely W. S., Stocken L. A. Biochem. J., 109, 24, 1968.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 11, 1982

УДК 581.8.52/759.232

АНАЛИЗ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ АНАТОМО- МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ КЛАДОДИЕВ КАВКАЗСКИХ ВИДОВ РОДА ASPARAGUS L.

К. Г. ТАМАНЯН

Изучены кавказские виды рода *Asparagus* с целью выяснения пределов их изменчивости; исследования проводились сравнительным анатомо-морфологическим методом. В результате среди кавказских спарж выделено 5 четких типов с соответствующей внутренней структурой кладодиев и установлен предел полиморфизма видов.

Ключевые слова: кладодии, полиморфизм, *Asparagus*, анатомо-морфологические признаки, таксономическая ценность.

В результате исследования большого фактического материала представителей рода *Asparagus* в связи с его систематикой возникла необходимость дополнения и уточнения изданной ранее статьи [3] об анатомическом строении кладодиев некоторых его видов. Как известно, кладодии рода *Asparagus* обладают необычайным полиморфизмом, вследствие чего виды морфологически различаются слабо. Но, невзирая на это, многие исследователи берут за основу именно форму и величину кладодиев, что, естественно, привело к нежелательному дроблению видов.

Указанное свойство представителей рода *Asparagus* побудило нас уделить особое внимание отбору исследуемого материала по кладодиям. Как правило, изучались кладодии, взятые из мутовки, расположенной в средней части третьей веточки снизу. Поскольку у большинства видов (*A. verticillatus*, *A. persicus*, *A. bresleranus*) кладодии различаются по величине, из каждой мутовки были сделаны срезы нескольких (3—5) кладодиев.

В целях выявления константных межвидовых признаков и установления реальных границ между видами нами изучена анатомическая структура 12-ти следующих видов рода *Asparagus*, ранее приводившихся для Кавказа: *A. verticillatus* L., *A. persicus* Baker, *A. polyphyllus*