

Տույց է տրվել այդ բոլոր մոտեցումների անբավարարությունը՝ ամինաթթու-
ների դասակարգելու մեկ միասնական համակարգով այնպես, որ հետագա-
յում հնարավոր լինի դրանց կառուցվածքային առանձնահատկությունները
պոլիպեպտիդային շղթաներում ներգրավելու ժառանգական ինֆորմացիան
բացահայտորեն կապակցել միմյանց հետ:

Առաջարկվող մոտեցումը հիմնված է ամինաթթվային մուլեկուլների
գումարային էլեկտրոնային կազմի դիտարկման վրա, որով և հնարավոր է
դառնում այդ բիոմուլեկուլների սկզբունքորեն նոր դասակարգումը:

TO THE DISCOVERY OF THE PROTEIN PRIMARY STRUCTURE PRINCIPLE

1. Classification of Amino Acids, Based on Electronic Level Investigation of Biomolecules

G. H. GEVORGIAN

Amino acids have been classified on the basis of biomolecules
summary electronic composition. It has been found out that amino acids
can be divided into two natural groups. This approach allows to classify
the amino acids according to a uniform system to show the 'relationship
between structural peculiarities of these biomolecules and genetic infor-
mation, including them in polypeptide chain.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Кедров Б. М. Мировая наука и Менделеев М., 1983.
2. Кедров Б. М., Трифонов Л. П. О современных проблемах периодической системы
М., 1974.
3. Менделеев Д. И. Основы химии. СПб., 1906.
4. Менделеев Д. И. Периодические законы. Доп. материалы ред. и коммент. Б. М. Ке-
рова. М., 1960.
5. Бутлеров А. М. Химическое строение и «Теория замещения». СПб., 1885.
6. Майстер А. Биохимия аминокислот. М., 1961.
7. Ленинджер А. Биохимия. М., 1974.
8. Levinthal C. Sci. Am., 214, 43, 1966.
9. Akintola A., Aboderin. Int. J. Biochem., 2, 537-541, 1971.

«Биолог» «Армении», т. XXXVIII, № 3, 1985

УДК 577.16/17+612.43/45

СОДЕРЖАНИЕ МОНОАМИНОВ И АКТИВНОСТЬ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ В МОЗГЕ ПРИ ДЕЙСТВИИ АДЕНОЗИН-3',5'-МОНОФОСФАТА И ИМИДАЗОЛА

Г. С. ХАЧАТРЯН, Г. Г. БАКУНИЦ

Изучалось содержание моноаминов и активность моноаминоксидазы в мозге при
внутриинтестинальном введении циклического 3',5'-АМР и имидазола. Установлено по-
вышение содержания катехоламинов, снижение уровня серотонина под действием
3',5'-АМР и уменьшение количества катехоламинов, серотонина на фоне введения ими-

дазолл. Выявлено также снижение активности МАО при введении 3',5'-АМР и повышение ее под влиянием имидазола. Обнаружена корреляция между изменениями в активности МАО и сдвигами в содержании моноаминов мозга при действии 3',5'-АМР и имидазола.

Ключевые слова: моноаминоксидаза, цАМР, имидазол.

Ранее нами было установлено [11], что аденозин и 3',5'-АМР способствуют повышению содержания катехоламинов и снижению уровня серотонина в мозге, а имидазол и гистидин вызывают уменьшение количества катехоламинов и серотонина. Для раскрытия механизмов действия этих веществ на количество моноаминов в мозге необходимо было изучить активность моноаминоксидазы (МАО) при тех же воздействиях.

Материал и методика. Опыты ставили на белых крысах-самцах массой 150—200 г, которым в/в вводили цАМР и имидазол в концентрациях, соответствующих их естественному содержанию в клетке. Подопытных животных в нужный момент исследования на 5-, 15-, 30-й мин после введения указанных физиологически активных веществ извлекали из жидкого азота для фиксации биохимических сдвигов в мозге.

Серотонин определяли в одной пробе мозговой ткани вместе с норадреналином и дофамином спектрофотометрическим методом в описании Анселя и Бисона [12]. Мозговую ткань гомогенизировали в кислоте бутаноле. После экстракции моноаминов их переводили в водную фазу, затем добавляли 2 М уксуснокислый натрий, после чего катехоламины адсорбировали на окиси алюминия. В дальнейшем серотонин и катехоламины определяли отдельно. Серотонин—щелочной экстракцией бутаолом в боратном буфере, pH 10, и последующим переводом его в фосфатный буфер, pH 7. Затем добавляли нингидрин, и пробы нагревали в водяном термостате при 75° 30 мин, после чего их оставляли при комнатной температуре на один час, в течение которого развивалась флуоресценция нингидринового производного серотонина. Пик возбуждения серотонина—385 мкм, пик флуоресценции—495 мкм. Катехоламины элюировали с окиси алюминия 0,25 М уксусной кислотой, pH элюата доводили до 6,5. Окисление проводили триоксинидоловым методом. В качестве окислителя применяли йод. Пики возбуждения норадреналина и дофамин соответствовали 385 и 320 мкм, а пики флуоресценции—485 и 370 мкм. Определение активности МАО проводили по методике Горкина и соотр. [1], основанной на том, что при окислительном дезаминировании β -фенилэтиламина образуется окрашенное соединение, дающее максимум поглощения в водных растворах при 420—450 мкм [20]. Оптическую плотность опытной пробы измеряли против контрольной сразу же после добавления субстрата при 450 мкм на спектрофотометре СФ-4 с термостатируемым кюветодержателем при 37°. Измерения повторяли каждые 60 сек в течение 6 мин. За единицу активности фермента принимали такое количество его, которое в стандартных условиях определения вызывает увеличение оптической плотности на 0,001 за 1 мин.

Результаты и обсуждение. Результаты исследования активности МАО в мозге при в/в введении цАМР и имидазола представлены в табл. 1.

По данным таблицы, цАМР вызывает достоверное, по сравнению с контролем, понижение активности фермента до $14,42 \pm 1,187$ единиц. Введение имидазола повышает активность МАО в мозге до $21,87 \pm 0,928$ единиц.

Сравнение этих данных с результатами определения содержания моноаминов мозга при в/в введении цАМР и имидазола (табл. 2) обнаруживает наличие корреляции между изменениями моноаминоксидазной активности и сдвигами в содержании моноаминов при действии указанных веществ.

Таблица 1
Активность МАО в мозге (в единицах активности на 1 мл гомогената) при введении цАМР и имидазола (15-я мин после введения)

Контроль	цАМР (0.15 мкМ)	Имидазол (15 мкМ)
M±m 18.81±0.359	14.4±1.137	21.87±0.928
n 9	11	11
P	<0.005	<0.025

Таблица 2
Содержание серотонина и катехоламинов в мозге (мкг/г ткани) при в/ц введении 3',5'-АМР (0.15 мкМ/150 г массы)

Моноамины		Введение 3', 5'-АМР, мин			
		контроль	5-я	15-я	30-я
Серотонин	M±m n p	0.703±0.013 10 p	0.569±0.019 8 <0.001	0.710±0.020 8 >0.5	0.680±0.017 8 >0.5
Норадреналин		0.410±0.011 10	0.490±0.025 8 <0.025	0.520±0.021 8 <0.001	0.460±0.017 8 <0.025
Дофамин		1.397±0.018 9	1.64±0.025 8 <0.001	1.730±0.028 8 <0.001	1.570±0.024 8 <0.001

Таблица 3
Содержание серотонина и катехоламинов в мозге (мкг/г ткани) при введении имидазола (15 мкМ/150 г массы)

Моноамины		Введение имидазола, мин			
		контроль	5-я	15-я	30-я
Серотонин	M±m n p	0.698±0.018 9 p	0.590±0.019 8 <0.01	0.620±0.014 6 <0.01	0.660±0.011 6 >0.05
Норадреналин		0.450±0.017 7	0.378±0.012 7 <0.01	0.350±0.014 7 <0.001	0.360±0.015 7 <0.01
Дофамин		1.380±0.015 7	1.290±0.018 7 <0.01	1.240±0.02 7 <0.001	1.310±0.014 7 <0.01

В настоящее время идентифицированы два типа МАО: А и Б, различающиеся не только чувствительностью к тормозящему действию ацетиленовых ингибиторов этого фермента, но и локализацией в тканях и субстратной специфичностью [6, 7, 19]. В тканях мозга синие, тромбоцитах человека обнаружены только МАО типа Б, тогда как в мозге человека, печени крысы имеются МАО типа как А, так и Б. К числу специфических субстратов МАО типа А относят серотонин и норадреналин, для МАО типа Б специфичными субстратами являются бензил-

амин и β -фенилэтиламин. Дофамин и тирамин—общие субстраты для МАО обоих типов. В тканях печени и мозга МАО находится почти исключительно в митохондриях, которые содержат 60—80% общего компонента фермента гомогената [4, 5, 13, 14, 21]. Установлено, что МАО прочно связана с нерастворимыми структурами митохондриальных мембран [3], т. е. является структурносвязанным ферментом.

Для анализа полученных нами данных необходимо рассмотреть особенности кинетики реакций, катализируемых мембраносвязанными моноаминоксидазами. Мантл и Вилсон [18] показали, что при использовании любых субстратов, в том числе серотонина, кривые зависимости v от $[S_0]$ имеют гиперболический вид. Исследование торможения серотонином ферментативного окисления тирамина привело к выводу, что фермент связывает серотонин при участии обоих активных центров, но каталитическое превращение субстрата осуществляется лишь на одном из этих центров. Горкин и соотр. [2], анализируя результаты собственных исследований, пришли к заключению, что их данные противоречат двухкомпонентной модели МАО в связи с тем, что если допустить, что тирамин является субстратом двух типов фермента (или двух независимых активных центров в пределах одной полипептидной цепи), а серотонин окисляется лишь одним типом фермента (или одним типом активных центров), то кинетическая кривая при использовании в качестве субстрата тирамина должна быть сложнее, чем при окислении серотонина. Однако был получен противоположный результат. Обнаруженные особенности кинетики окисления серотонина и тирамина митохондриальной МАО указывают на возможное проявление ферментом кооперативных свойств в момент связывания субстратов, что характерно для аллостерических ферментов [9, 16]. При рассмотрении возможных моделей строения и функционирования митохондриальной МАО сделано допущение [2], что в мембранных структурах клетки мономеры собраны в регулярные олигомеры, имеющие по несколько А и Б центров. Если серотонин связывается при участии обоих активных центров, но окисляется на одном из них значительно быстрее, чем на другом, то второй центр можно рассматривать как аллостерический, по отношению к которому он выступает как специфический аллостерический эффектор [2]. Было показано [18], что по отношению к процессам деаминации тирамина или дофамина, которые окисляются при участии обоих центров, серотонин является конкурентным ингибитором. Особенно сложный характер кривой зависимости v от $[S_0]$ при использовании в качестве субстрата серотонина свидетельствует о возможном непосредственном связывании его с митохондриальной мембраной вне олигомеров МАО, что может привести к конформационному переходу митохондриальной мембраны, отражающемуся на каталитических и аллостерических параметрах МАО.

Рассматривая установленное нами понижение активности МАО при введении цАМР, можно допустить возможность связывания его с аллостерическими центрами фермента, изменяющего конформацию олимерной МАО и функционирования каталитических центров. Можно предположить также, как и в случае с серотонином, связывание цАМР

ние каталитических и регуляторных центров фермента, приводящее к конформационным изменениям митохондриальной мембраны. Не исключена возможность взаимодействия цАМР с рецепторами митохондриальной мембраны, изменяющего каталитические и регуляторные характеристики МАО. Она допускается для серотонина в предложенной Горкиным и сотр. [2] модели МАО. Таким образом, самой митохондриальной мембране, в которую «встроена» МАО, отводится активная регуляторная роль, это подтверждается опытами, в которых изменение физико-химического состояния митохондрий оказывало значительное воздействие на свойство мембраны митохондрий претерпевать конформационные переходы [10].

В исследованиях Горкина и Романовой [8] были получены данные об участии ионов двухвалентных металлов в каталитическом действии митохондриальной МАО печени и мозга крыс: показано, что ее активность обратимо ингибируется *in vitro* комплексообразователями (8-оксихинолином, плюмбоном, диэтилдитиокарбаматом и др.). В опытах с использованием оксихинолина при изучении распределения свободной и связанной цАМР на анионообменной смоле в присутствии ионов металлов доказана возможность образования комплексов цАМР с ионами двухвалентных металлов— Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} [17]. Имидазольные группы характеризуются высоким сродством к ионам металлов, что обуславливает их участие в образовании координационных комплексов с металлами, входящими в состав активного центра ферментов [15]. Из вышесказанного следует, что цАМР и имидазольные введенные в/ц, по-видимому, могут образовывать комплексы с ионами металлов, входящими в состав активного центра МАО. Это в свою очередь может привести к изменениям активности МАО.

Ереванский государственный медицинский институт,
лаборатория биосинтетических реакций мозга, ЦНИИ

Поступило 25.X 1983 г.

ՄՈՆԻՏԻՆԳԻՆԳ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎ ՄՈՆԻՏԻՆԳԱՅԻՆ ՍԵՐՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒՎԵՂՈՒՄ ԱԿՏԻՎՈՋԻՆՑ՝ 3', 5'-ՄՈՆՈԿՈՍՅԱՏԻ ԵՎ ԻՆԻԳԱՋՈՒ ԱՋԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՏԱԿ

Դ. Ս. ԿԱԶԱՏՅԱՆ, Դ. Դ. ԲԱՌԻՅ

Ուսումնասիրված է մոնոամինների քանակը և մոնոամինօքսիդազ (ՄԱՕ) ակտիվությունը ուղեղում՝ ցիկլիկ 3', 5'-ԱՄՖ-ի և իմիդազոլի ներցիտերնալ ներարկման ժամանակ: Բացահայտված է կատեխոլամինների քանակի բարձրացում և սերոտոնինի իջեցում 3', 5'-ԱՄՖ-ի ազդեցությանից, ինչպես նաև կատեխոլամինների, սերոտոնինի քանակների նվազում իմիդազոլի ազդեցության տակ: Բացահայտված է ՄԱՕ-ի ակտիվության իջեցում 3', 5'-ԱՄՖ-ի ներարկման ժամանակ և ՄԱՕ-ի ակտիվության բարձրացում իմիդազոլի ներարկմամբ: Ի հայտ է բերված ՄԱՕ-ի ակտիվության և մոնոամինների քանակական տեղաշարժերի միջև փոխադարձ կապ՝ 3', 5'-ԱՄՖ-ի և իմիդազոլի ներարկումից:

CONTENTS OF MONOAMINES AND ACTIVITY OF MONOAMINOXIDASE IN THE BRAIN UNDER THE EFFECT OF ADENOSINE-3', 5'-MONOPHOSPHATE AND IMIDAZOLE

G. S. KHACHATRIAN, G. G. BAKUNTS

Contents of monoamines and activity of monoaminoxidase (MAO) in the brain during the Intracisternal injection of cyclic 3', 5'-AMP and imidazole was studied. An increase of the catecholamine content, decrease of serotonin content under the effect of 3', 5'-AMP and decrease of the content of catecholamines, serotonin under the effect of imidazole was established. A decrease of MAO activity during the injection of 3', 5'-AMP and increase of its activity during the injection of imidazole was revealed.

A correlation between the changes of MAO activity and amounts of brain monoamines during the injection of 3', 5'-AMP and imidazole was established.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Брусова Л. В., Виноградова Л. А., Горкин В. З. Укр. биохим. журн., 37, 1, 463, 1965.
2. Васильевых Л. Г., Горкин В. З., Каган З. С. Биохимия, 44, 9, 1542, 1979.
3. Версочкина И. В., Горкин В. З., Митюшин В. М., Эльмисер Н. Е. Биофизика, 9, 503, 1964.
4. Галбов Р. Н. Усп. совр. биол., 70, 26, 1970.
5. Горкин В. З. В кн.: Химические факторы регуляции активности биосинтеза ферментов. 169, М., 1969.
6. Горкин В. З. Мол. биол., 10, 1, 717, 1976.
7. Горкин В. З. В сб.: Катеcholаминергические нейроны. 202, М., 1979.
8. Горкин В. З., Романович Л. А. Биохимия, 24, 826, 1959.
9. Каган З. С. В сб.: Аллостерические ферменты. 8, 164, М., 1975.
10. Кокев С. Б., Аксентьев С. Л., Черницкий Е. А. В кн.: Кооперативные переходы белков и клетки. М., 1970.
11. Хачатрян Г. С., Бахуни Г. Г. Биол. ж. Армении. 33, 9, 948, 1980.
12. Ansell G. B., Beeson A. F. Analytical Biochem., 23, 2, 196, 1968.
13. Arnat G. R., Roberts E. D. J. Neurochem., 503, 1962.
14. Baudhuin R., Beaufay H., Pahlman J., Sellinger O. Z., Wattiaux R., Jacques P. de Duve C. J. Biochem., 92, 179, 1954.
15. Kayulla A., Berthou G. Bioelectrochem. and Bioenerg., 6, 3, 337, 1979.
16. Kurganov B. I., Kagan Z. S., Dorozhko A. I., Yakovlev V. A. J. Theoret. Biol., 47, 1, 1, 1974.
17. Lonsborough J., Luskart T.—M. J. Cycl. Nucleotide Res., 5, 2, 145, 1979.
18. Mantle T. J., Wilson K., Long R. F. Biochem. Pharmacol., 24, 22, 2039, 1975.
19. Yang H.—Y. T. Neff N. J. Pharmacol. and Exp. Ther., 189, 3, 733, 1974.
20. Zeller E. A., Buerki H. R., Ishimura I. Fed. Proc., 21, 246, 1962.
21. Zubrzycki Z., Standings H. Z. Physiol. Chem., 348, 639, 1967.