

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ СВОЙСТВ ПОЛИНУКЛЕОТИДОВ: СВИДЕТЕЛЬСТВА СПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЦЕПЦИИ

А.Ф. КАЗАНЧЯЦ, В.М. САМВЕЛЯН, Р.А. ЗАХАРЯН

Институт молекулярной биологии НАН Армении, 375044

Институт кардиологии им. Л.А. Оганяна МЗ Армении, 375044, Ереван

На изолированном сердце лягушки исследованы кардиотропные и холинотропные свойства ряда полирибонуклеотидов. Показано, что для однонитчатых полирибонуклеотидов характерен положительный инотропный и холинотропный эффект в отношении мускариновых холинорецепторов. Двухспиральная РНК (ридостин) и низкомолекулярная РНК, напротив, обладают отрицательным инотропным и холинотропным эффектами, блокируемыми атропином. Регистрируемые эффекты можно объяснить существованием специфических рецепторов для различных полинуклеотидов на плазматической мембране кардиомиоцитов.

Չորսի մեկուսացված սրտի վրա ուսումնասիրվել են որոշ պոլիռիբոնուկլեոտիդների կարդիոտրոպ և խոլինոմոդուլյավորող հատկանիշները: Յուրյ է տրված, որ միաթել պոլիռիբոնուկլեոտիդներին բնութագրական է դրական ինոտրոպ և խոլինոլիտիկ ազդեցությունը մուսկլարինային խոլինոկոնտրոլների նկատմամբ: Երկսպարույր ՌՆԹ-ն (ռիդոստին) և ցածրամոլեկուլյար ՌՆԹ-ն օժտված են բացասական ինոտրոպ և խոլինոմիմետիկ ազդեցությամբ ատրոպինով բլոկադայի դեպքում: Չրանցված ազդեցությունները կարելի է բացատրել տարբեր պոլինուկլեոտիդների համար հատուկ ռեցեպտորների գոյությամբ կարդիոմիոցիտների պլազմատիկ մեմբրանի վրա:

The cardiotropic and choline modulating properties of some polyribonucleotides were investigated. The one chain polyribonucleotides are characterized with positive inotropic and cholinolytic effect on muscarinic choline receptors. Two-helix RNA (ridostin) and low molecular RNA possess with negative inotropic and cholinomimetic effect blocked with atropin. The effects registered may be explained by existence of specific receptors for different polynucleotides on the plasmatic membrane of cardiomyocytes.

Полинуклеотиды - рецепторы сердца.

Исследования последних лет показали, что нуклеотидные нуклеотиды - АТФ и другие нуклеотидтрифосфаты, взаимодействуя с плазматической мембраной ряда клеток, индуцируют трансмембранный сигнал, вызывающий определенные сдвиги в метаболизме клетки, а именно изменения уровня инозитол фосфата, концентрации внутриклеточного кальция, уровня фосфорилирования белков поверхностной мембраны [7,9,11]. Взаимодействие нуклеотидтрифосфатов с клеточной мембраной осуществляется путем связывания со специфическими, так называемыми P2, пуринорецепторами, число которых на поверхности клетки варьирует и зависит от типа клеток [7].

Ранее нами [1-4], а затем и другими авторами [8,10,12] было показано, что рецепция ДНК, двухспиральных форм РНК (дс-РНК) олигонуклеотидов на плазматической мембране клеток млекопитающих высокоспецифична, обусловлена взаимодействием с протеинами и по своим характеристикам аналогична взаимодействию лиганд-рецептор. Трансмембранный сигнал, индуцированный дс-РНК,

сопровождается повышением уровня цАМФ, внутриклеточного Ca^{2+} , степени фосфорилирования белков поверхностной мембраны, однако, в отличие от АТФ, взаимодействие дс-РНК с рецептором поверхностной мембраны клетки не сопровождается активацией протеинкиназы-С, что свидетельствует о принципиально разных путях воздействия АТФ и дс-РНК на метаболизм клетки. Данные, полученные нами [3], позволяют предположить, что протеиновые факторы узнавания нуклеиновых кислот на плазматической мембране проявляют специфичность в узнавании определенных последовательностей и, по-видимому, конформации молекулы нуклеиновой кислоты. В данной работе представлены результаты функционального тестирования полинуклеотидов, различающихся по вторичной структуре и составу оснований, по кардиотропным свойствам и способности изменять чувствительность мускариновых рецепторов сердца.

Материал и методика. На изолированных по Штраубу сердцах лягушек препараты изучены в концентрациях от 1×10^{-7} до 1×10^{-3} г/мл, каждая не менее чем на 5 изолированных сердцах. Кардиотонический и кардиодепрессивный эффекты устанавливали по изменению амплитуды сокращений в процентах от исходного уровня. Одновременно изучали также влияние препаратов на чувствительность холинорецепторов сердца по изменению мускариновых эффектов ацетилхолина [5,6]. Холинолитический и холиномиметический эффекты также выражали в процентах.

Изучены кардиотропные свойства следующих препаратов: ридостиндвуспиральная РНК (дс-РНК), полирибонуклеотиды-поли-А, поли-Г, поли-Ц, поли-И (НИКТИ БАЗ, Бердск), поли-У ("Reanal", Венгрия), низкомолекулярная РНК (им-РНК, "Serva" Германия).

Данные экспериментов обработаны методом вариационной статистики.

Результаты и обсуждение. Препараты поли-Ц и поли-И в концентрациях 1×10^{-7} - 1×10^{-4} г/мл не изменяли амплитуды сокращений изолированного сердца лягушки, проявляя одновременно незначительный холинолитический эффект. Препарат поли-У оказывает ярко выраженное кардиотоническое действие до 180% при концентрации 1×10^{-3} г/мл и 156% при концентрации 1×10^{-4} г/мл. Дальнейшее увеличение концентрации до 1×10^{-1} г/мл вызывает значительное уменьшение амплитуды сокращений, но все же кардиотоническое действие препарата сохраняется, достигая 71%.

Отсутствие отрицательного инотропного эффекта при такой высокой концентрации препарата свидетельствует о крайне низкой токсичности этого вещества.

При воздействии поли-У наблюдается также изменение чувствительности мускариновых холинорецепторов сердца: во всех концентрациях проявляется холинолитический эффект, наиболее выраженный при концентрации 1×10^{-3} г/мл.

Эффект поли-А проявляется весьма своеобразно - кардиотонический эффект имеет "двугорбый" профиль, с двумя пиками максимальных амплитуд, достигающих 123% от исходных сокращений. Подобно остальным полинуклеотидам, поли-А также проявляет холинолитический эффект, равный 46%.

Наряду с поли-У и поли-А, поли-Г также вызывает увеличение амплитуды сердечных сокращений на 190% и проявляет значительный (3-5%) холинолитический эффект.

Несколько неоднозначно влияние низкомолекулярной им-РНК на сокращение сердечной мышцы. В концентрациях от 1×10^{-6} до 1×10^{-4} г/мл препарат проявляет выраженный кардиотонический эффект, регистрируемый также после длительного промывания раствором Рингера. В то же время в 25-30% опытов им-РНК оказывает

кардиодепрессивное действие, достигающее 42% при концентрации 1×10^{-4} г/мл. При концентрации 1×10^{-3} г/мл этот эффект углубляется, вплоть до полной остановки сердечных сокращений в большинстве экспериментов.

Опыты показали, что им-РНК проявляет отчетливый холиномиметический эффект, повышая в концентрации 5×10^{-4} г/мл чувствительность мускариновых рецепторов к ацетилхолину на 62%.

Препарат де-РНК оказывает выраженное кардиодепрессивное действие в концентрациях 1×10^{-4} - 1×10^{-3} г/мл, приводящее к остановке спонтанных сокращений сердца.

В серии опытов, в которых показано кардиодепрессивное действие им-РНК, препарат де-РНК оказывал слабо выраженный положительный инотропный эффект.

Предварительно отгестированный эффект ацетилхолина углубляется после введения препарата де-РНК, при этом выраженное холиномиметическое действие достигает 28% при концентрации 1×10^{-4} г/мл. Интересно отметить, что после промывания раствором Рингера холиномиметический эффект де-РНК не только сохраняется, но и увеличивается почти вдвое.

Таким образом, все изученные соединения, за исключением поли-Ц и поли-И, обладают кардиотропными свойствами и модулируют чувствительность мускариновых холинорецепторов сердца. Сопоставление их инотропных эффектов показало, что наибольшее положительное инотропное действие оказывают препараты поли-Г и поли-У. Отрицательный инотропный эффект, характерный для де-РНК, в корне противоположен действию доноритовых полинуклеотидов, что, по-видимому, свидетельствует о влиянии вторичной структуры рибонуклеиновых полимеров на направленность их инотропного эффекта. Величина же кардиотропного эффекта отлична у полинуклеотидов с качественно различной природой мономерного нуклеотида.

Анализ полученных данных показал, что кроме де-РНК и им-РНК все остальные препараты проявляют стабильный холиномиметический эффект, достигающий 76% у поли-У в концентрации 1×10^{-3} г/мл, 46% у поли-А в концентрации 1×10^{-4} г/мл. Де-РНК и им-РНК оказывают холиномиметическое действие, достигающее у первого в концентрации 1×10^{-5} г/мл - 28% и у второго в концентрации 1×10^{-4} г/мл - 62%. Учитывая наличие дозозависимых кардиодепрессивных и холиномиметических эффектов де-РНК, необходимо отметить их сходство с действием низких концентраций ацетилхолина.

С целью выяснения механизма кардиодепрессивного и холиномиметического действия ридостина были поставлены эксперименты по блокировке мускариновых рецепторов с помощью атропина.

После 5-минутного взаимодействия атропина с мускариновыми холинорецепторами сердца лягушки полностью снимается кардиодепрессивный эффект как ацетилхолина, так и ридостина. Блокирующее действие атропина сохраняется длительное время в течение нескольких часов и соответственно не проявляется кардиодепрессивное влияние ридостина. Результаты опытов с блокировкой холинорецепторов сердца свидетельствуют о том, что, по-видимому, кардиодепрессивное действие ридостина обусловлено взаимодействием его с холинорецепторами сердца.

Поскольку поли-А и поли-Г отличаются от дс-РНК односпиральной и регулярной структурой, можно предположить, что характер модулирующего эффекта в отношении холинорецепторов сердца определяется структурной специфичностью полинуклеотидов.

Что касается холиномодулирующего эффекта им-РНК, то выраженное повышение чувствительности холинорецепторов сердца в этом случае может быть обусловлено присутствием в препарате им-РНК полирибонуклеотидов с выраженной вторичной структурой. Этим же дс-подобным фактором можно объяснить отрицательную направленность инотропного эффекта им-РНК в ряде опытов.

На основании полученных данных можно заключить, что регистрируемые эффекты изученных веществ на сократительный аппарат сердечной мышцы лягушки и реактивность его мускариночувствительных холинорецепторов, по-видимому, объясняются существованием специфических рецепторов для полинуклеотидов на плазматической мембране кардиомиоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Захарян Р.А. Структура и транскрипция генома. Ереван, 1981.
2. Захарян Р.А., Бакунц К.А., Скобелева Н.А. Нейрохимия, 8, 1, 34-38, 1989.
3. Захарян Р.А., Карагезян К.А. Структура и функция белков и нуклеиновых кислот. Цхалтубо, 1982.
4. Захарян Р.А., Овсепян В.А., Аракелян А.Г. Биолог. журн. Армении, 42, 9/10, 923-926, 1989.
5. Лукомская Н.Я. Физиологическая роль ацетилхолина и изыскание новых лекарственных средств. Л., 1957.
6. Самвелян В.М. Извест. АН Арм ССР (сер. биол.), 18, 3, 15-20, 1965.
7. Friedberg L., Weisman G.A., De B.K. J. Membr. Biol. 83, 251-259, 1985.
8. Gabor G., Bennet R.M. Biochem. Biophys. Res. Commun., 122, 1034-1039, 1984.
9. Gordon J.L. Biochem. J., 233, 309-319, 1986.
10. Loke S.L., Stein C.A., Zhang L.H., et al. Nat. Acad. Sci. USA, 86, 3474-3478, 1989.
11. Rozengart E., Heppel L.A. Biochem. Biophys. Res. Commun., 67, 1581-1588, 1975.
12. Yakubov L. A., Deeva E.A., Zarytova V.F., et al. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 86, 6454-6458, 1989.

Поступила 23.V.1991