

УДК 577.17

БИОХИМИЯ

Л. А. Карапетян, Л. А. Григорян,
 член-корреспондент АН Армянской ССР А. А. Галоян

**Влияние нейрого르몬а «С» на рибонуклеазную активность
 мозговой и сердечной тканей**

(Представлено 19/XI 1977)

Наиболее изученной является РНК-аза поджелудочной железы⁽¹⁻³⁾, а также РНК-аза печени и селезенки быка^(4,5).

Недавно нами показано увеличение количества РНК сердечной мышцы и, в частности, фракции рибосомальной РНК при воздействии коронароактивного нейрого르몬ального препарата «Гипоталам»⁽⁶⁾. В связи с этим представляло интерес изучить активность РНК-азы сердечной мышцы после введения указанного препарата.

В опытах использовали белых крыс весом 100—130 г. Нейрого르몬 «С» вводили животным внутрибрюшинно в количестве 0,5 единицы в 0,2 мл дистиллированной воды. Контрольным животным вводили 0,2 мл физиологического раствора. Животных забивали через 90 минут после введения препарата. Все операции проводили строго на холоду. Извлекали мозг и сердце. Мозг гомогенизировали с 4 объемами 0,44 М сахарозы, а сердце растирали в ступке с кварцевым песком и гомогенат центрифугировали при 8000×g в течение 10 минут при 0°C. Полученный супернатант использовался для определения кислой и щелочной рибонуклеазной активности. До определения ферментативной активности супернатант замораживали и оттаивали 5 раз. Активность кислой и щелочной рибонуклеазы определяли по К. Шортману⁽⁷⁾ с некоторыми модификациями⁽⁸⁾ при pH 5,8 и 7,8 соответственно. К инкубационной среде, содержащей 0,2 мл веронал-ацетатного буфера, 0,1 мл воды (при определении щелочной РНК-азной активности—0,01 М п-хлормеркури-бензоата), добавляли 1%-ную печеночную РНК в количестве 0,2 мл и инкубировали в течении 30 минут при 37°C. После инкубации реакцию приостанавливали охлаждением до 0°C и путем добавления 0,6 мл 1 М HCl в 78% этаноле. Недеградированную РНК и белки удаляли центрифугированием при 0°C, супернатант разбавляли (1:6) и измеряли поглощение при 260 мкм на спектрофотометре «Uniscam» SP-800. За единицу активности принималось то количество фермента, которое вызывало прирост оптической плотности на 0,1 единицу при 260 мкм.

Наряду с определением РНК-азной активности нами был изучен ингибитор щелочной РНК-азы, который впервые был обнаружен в растворимой фракции печени (9), а в дальнейшем и в растворимой фракции мозга (10). Являясь веществом белковой природы, ингибитор тормозит активность щелочной РНК-азы, образуя с ней неактивные комплексы с участием SH-групп.

Для получения ингибитора РНК-азы, постядерную надосадочную жидкость центрифугировали два часа при $80\,000\times g$ и $4^{\circ}C$ на центрифуге VAC-601. Брали надосадочную жидкость. Инкубационная смесь состояла из 0,1 мл 0,1%-ного раствора желатины, обработанной ЭДТА и содержащей $0,005\ \mu g$ панкреатической РНК-азы, 0,1 мл воды или разведенного супернатанта, 0,2 мл 1% раствора печеночной РНК, 0,2 мл 0,03 M веронал-ацетатного буфера pH 7,8. Инкубацию проводили при $37^{\circ}C$ в течение 30 минут. Реакцию останавливали и определяли увеличение кислоторастворимых нуклеотидов при 260 мк, как описано выше. РНК-азная активность в отсутствие супернатанта принималась за 100%. За единицу ингибитора РНК-азы принималось то его количество, которое вызывало уменьшение РНК-азной активности при указанных условиях на 50%. Единицы ингибитора РНК-азы выражали на 1 г ткани.

Данные по определению кислой РНК-азы мозга и сердца приведены в табл. 1.

Таблица 1

Единицы активности кислой РНК-азы сердца и больших полушарий мозга

Исследуемые органы	Контроль	Опыт
Мозг	105±5	110±10
Сердце	78±6	81±4

Из табл. 1 нетрудно заметить, что РНК-азная активность контрольных животных, определяемая при pH 5,8, в мозговой ткани значительно выше, чем в сердечной. Введение животным нейрого르몬а «С» практически не меняет уровень ферментативной активности, хотя наблюдается небольшая тенденция к повышению РНК-азной активности.

Таблица 2

Активность щелочной РНК-азы и уровень ее ингибитора (в единицах)

Исследуемые органы		РНК-азная активность	Уровень ингибитора
Мозг	Контроль	161±4	332±12
	Опыт	111±6	432±2
Сердце	Контроль	92±2	158±4
	Опыт	76±2	192±7

Из табл. 2 следует, что, как и в случае кислой РНК-азы, при pH 7,8 рибонуклеазная активность мозга контрольных животных намного превышает таковую сердечной ткани и соответственно составляет 161 и 92. Введение гипоталамического коронароактивного препарата «С» приводит к уменьшению ферментативной активности в мозгу на 30%. Рибонуклеазная активность в сердечной ткани понижается на 20%.

Недавно А. А. Галояном с сотр. установлена ингибция другого аналогичного фермента. Так, при изучении гидролиза циклической 3',5'-аденозинмонофосфорной кислоты фосфодиэстеразой сердца и мозга была показана значительная ингибция фермента под влиянием нейrogормона «С». В опытах *in vitro* установлено подавление активности ФДЭ сердца на 24%, в то время как фосфодиэстеразная активность мозга ингибировалась на 80% по сравнению с контролем (11).

В настоящей работе нами была определена высокая активность ингибитора щелочной РНК-азы в мозгу—332, в сердечной же ткани его активность составляла 158 единиц. Необходимо отметить прямую корреляцию между уменьшением ферментативной активности и повышением уровня ингибитора щелочной РНК-азы и в мозгу и сердце подопытных животных.

Из полученных данных можно заключить, что рибонуклеазная активность в сердечной мышце проявляется при обоих значениях pH—5,7 и 7,8. Введение нейrogормона «С» практически не влияет на кислую РНК-азу сердца и мозга, в то время как в этих тканях при pH 7,8 значительно подавляется ферментативная активность. Исследование активности ингибитора щелочной РНК-азы после введения препарата «С» продемонстрировало прямую зависимость между активностью фермента и уровнем его ингибитора.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

Լ. Ա. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Լ. Ա. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ, Հայկական ՍՍՀ ԳԱ բրադից-անգամ Ա. Ա. ԳԱՈՅԱՆ

Նեյրոհորմոն «С»-ի ազդեցությունը ուղեղի և սրտի հյուսվածքների ռիբոնուկլեազայի ակտիվության վրա

Ցույց է տրված, որ ռիբոնուկլեազային ակտիվությունը սրտամկանում
ի հայտ է գալիս 2рН-ի ժամանակ рН 5,8, և 7,8:

Նեյրոհորմոն «С»-ի ներարկումը չի ազդում սրտի և ուղեղի թթու
ներոնուկլեազաների ակտիվության վրա, այն ժամանակ, երբ рН 7,8-ի դեպ-
քում 2 հյուսվածքներում էլ ֆերմենտատիվ ակտիվությունը զգալիորեն ճըն-
ջվում է կոնտրոլի համեմատ: Ինչպես ուղեղում, այնպես էլ սրտամկանում
հայտնաբերվել է հիմնային ռիբոնուկլեազային ինհիբիտոր և ցույց է տրված,
որ նրա մակարդակը բարձրանում է նեյրոհորմոն «С»-ի ներարկումից ան-
միջապես հետո:

ЛИТЕРАТУРА — ЦИЦЦԱՆՈՒՅՈՒՄ

- ¹ C. B. Anfinsen, S. E. Agvist, I. R. Cooke, J. Biol. Chem., 234, 1959. ² M. R. Mc. Donald, Methods in Enzymol., 2, 427 (1955). ³ M. B. Sporn, T. Wanko, W. Dingman, J. Cell Biol., 15, 109 (1962). ⁴ J. R. Beard, W. E. Parrel, J. Biol. Chem., 239, 4186 (1964). ⁵ M. E. Maver, A. E. Gruo, J. Biol. Chem., 237, 736 (1962). ⁶ Л. А. Карпентян, С. С. Алексанян Л. А. Григорян, А. А. Галоян, „Биологический журнал Армении“, №4, 1978. ⁷ K. Shortman, Biochem. Biophys. Acta, 51, 37 (1961). ⁸ G. A. J. Goodlad and G. Y. Ma, Biochem. Biophys. Acta, 378, 221 (1975). ⁹ J. S. Roth, Biochem. Biophys. Acta, 21, 34 (1956). ¹⁰ J. G. Houck, J. Appl. Physiol., 13, 273 (1958). ¹¹ А. А. Галоян, В. Я. Гурвиц, М. А. Погосян, Вопросы биохимии мозга, XI, 89 (1976).