УДК 577.123.5

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

Г. С. Хачатрян, Г. Г. Галстян

Содержание ядерной РНК в обогащенных нейрональной и глиальной фракциях головного мозга при действии пурин- и пиримидинсодержащих циклических нуклеотидов

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР А. А. Галояном 28/XII 1982)

Ряд данных указывает на ключевую роль циклических нуклеотидов в трансформации физиологического, в частности гормонального, сигнала, получаемого клеткой извне (¹⁻⁴). Циклически-нуклеотид-зависимое фосфорилирование и дефосфорилирование хроматиновых белков могут менять характер их взаимодействия с РНК-полимеразой и ДНК, что может привести к повышению матричной активности хроматина и обеспечению транскрипции особых хроматиновых участков (⁵⁻⁷). В настоящее время мало изучено действие экзогенных циклических нуклеотидов на генную экспрессию (^{8, 9}) и их влияние на интенсивность метаболизма РНК в нейронах и глиальных клетках (^{10,11}).

В предыдущих наших исследованиях (¹²⁻¹⁴) было показано стимулирующее воздействие циклических нуклеотидов (3',5'—АМР, 3',5'—ГМР) на содержание различных классов РНК в клетках цельной мозговой ткани. Необходимо было установить точку приложения различных циклических нуклеотидов в нервной ткани и выяснить, какие клеточные структуры в первую очередь ответственны за стимуляцию биосинтеза различных форм РНК. В настоящей работе приводятся данные сравнительной характеристики действия пурин- и пиримидинсодержащих циклических нуклеотидов на содержание ядерной РНК (я—РНК) в обогащенных нейрональной и глиальной фракциях головного мозга.

Были использованы циклические 3',5'—АМР, 2',3'—АМР, 3',5'—ГМР, 3',5'—УМР, 3',5'—СМР, поливинилпиролон, бычий сывороточный альбумин фирмы «Сигма», фикола фирмы «фармасия». Остальные реактивы отечественного производства классификации хч. Опыты проводили на белых крысах-самцах массой 150—180 г. В соответствующих сериях опытов подопытным животным вводили внутрицистернально один из вышеуказанных нуклеотидов в дозе 50 мкг. С целью фиксации обменных процессов через 30 мин подопытных животных замораживали в жидком азоте. Для получения обогащенных нейрональной и глиальной фракций по методу Бломстранда и Хамбергера (¹⁵), модифицированному Г. В. Априкяном и Хамбергером (¹⁶), в холодильной комнате извлекали большие полушария мозга (3,5 г). Измельченную мозговую ткань суспендировали в гипотонической среде по Се-

линджеру (17). Выделение, очистку и определение я-РНК ГЦ и АУ типов в соответствующих клеточных фракциях проводили комбинированным методом, разработанным в нашей лаборатории (18). Расчет количества РНК на одну клетку производили по методу Фрейза (19).

Как показывают данные табл. 1, содержание я-РНК ГЦ и АУ типов в контрольной серии опытов больше в нейронах, чем в глии. Эта разница более выражена (почти в 3 раза) при пересчете РНК на

Таблица 1

Действие пуриносодержащих циклических нуклеозидов на содержание я-РНК в обогащенных нейрональной и глиальной фракциях

Циклические нуклеотиды	Тип я-РНК	Фракция, мкг/г ткани и пг/клетку соответственно	
		нейрональная	глиальная
Контроль	ГЦ	17,2 ± 0,212 0,69 ± 0,008	14,0 ± 0,171 0,20 ± 0,003
	АУ	231,3 ± 1,805 9,25 ± 0,072	210,0 ± 1,792 2,97 ± 0,025
3',5'-AMP	ГЦ	13,5 ± 0,191* 0,15 ± 0,009	11,0 ± 0,198* 0,156 ± 0,003
	АУ	176,5 ± 1,892* 7,06 ± 0,076	181,0 ± 2,402* 2,57 ± 0,033
2',3'-AMP	ГЦ	14,0 ± 0,178* 0,56 ± 0,007	10,7 ± 0,183* 0,15 ± 0,002
	АУ	183,8 ± 2,145* 7,35 ± 0,086	182,4 ± 1,632* 2,58 ± 0,023
3',5'-GMP	ГЦ	11,0 ± 0,213* 0,44 ± 0,009	12,1 ± 0,123* 0,17 ± 0,002
	АУ	270,3 ± 2,075* 10,51 ± 0,083	246,0 ± 1,794* 3,48 ± 0,025

Средние данные 30 опытов.

* Разница результатов по отношению к контролю достоверно.

одну клетку. Внутрицестернальное введение 3',5'-AMP приводит к значительному понижению изучаемых нами форм я-РНК как в нейронах, так и в глии.

Понижение содержания я-РНК ГЦ и АУ типов отмечается и при действии другого аденинсодержащего циклического нуклеотида—2',3'-AMP. Сходство между действиями 2',3'-AMP и 3',5'-AMP кажущееся, потому что при действии 3',5'-AMP содержание суммарной клеточной РНК повышается, а при действии 2',3'-AMP—понижается (12,13). При действии всех остальных циклических нуклеотидов содержание суммарной РНК в обеих клеточных фракциях повышается.

Изучение действия 3',5'-GMP выявило противоположный эффект в отношении содержания ядерной РНК АУ типа (пре-mРНК). Содержание этой РНК достоверно увеличивалось как в нейронах, так и в глии. Эти данные на уровне нейронов и нейроглии вновь подтвердили полученные ранее Г. С. Хачатрянном и сотрудниками данные в отношении цельной мозговой ткани (12-14). Таким образом, феномен внутриклеточного действия 3',5'-AMP и 3',5'-GMP в регуляции функции клетки по принципу yin—yang (13, 20) был подтвержден нами в отношении нейронов и глии. Как нейроны, так и клетки глии

оказались достаточно активными мишенями для экзогенных циклических нуклеотидов.

Сравнительно недавно стало известно, что в клетках содержатся и другие циклические нуклеотиды. Выяснилось, что 3',5'-СМР способен стимулировать пролиферацию клеток и является внутриклеточным антагонистом 3',5'-АМР, а 3',5'-УМР подобно 3',5'-АМР тормозит рост клеток (21). Анализ наших данных показывает, что дей-

Таблица 2

Действие пиримидинсодержащих циклических нуклеотидов на содержание я-РНК в обогащенных нейрональной и глиальной фракциях

Циклические нуклеотиды	Тип я-РНК	Фракция, мкг/г ткани и пг/клетку соответственно	
		нейрональная	глиальная
3',5'-СМР	ГЦ	18,5 ± 0,203*	20,6 ± 0,257*
	АУ	0,74 ± 0,008	0,29 ± 0,004
3',5'-УМР	ГЦ	270,0 ± 2,387*	285,0 ± 2,515*
		10,81 ± 0,095	4,04 ± 0,038
	АУ	17,0 ± 0,139**	12,2 ± 0,123*
		0,68 ± 0,009	0,171 ± 0,002
		227,5 ± 1,525**	184,1 ± 1,621*
		9,12 ± 0,098	2,68 ± 0,028

Средние данные 30 опытов.

Разница результатов по отношению к контролю: * достоверно; ** недостоверно.

ствие экзогенных 3',5'-УМР и 3',5'-СМР на обмен нуклеиновых кислот (табл. 2) не полностью совпадает с действием соответствующих пуринсодержащих 3',5'-циклических нуклеотидов. 3',5'-СМР, как и 3',5'-ГМР повышают содержание я-РНК АУ типа в обеих клеточных фракциях. Но при действии 3',5'-СМР повышается и содержание я-РНК ГЦ типа, тогда как при действии 3',5'-ГМР содержание я-РНК ГЦ типа понижается.

В отношении фракции, обогащенной клетками глии, 3',5'-АМР и 3',5'-УМР являются синергистами. При действии обоих циклических нуклеотидов наблюдается понижение содержания я-РНК ГЦ и АУ типов. 3',5'-АМР вызывает понижение содержания я-РНК ГЦ и АУ типов во фракции, обогащенной клетками нейронов, тогда как 3',5'-УМР достоверных изменений не вызывает. При сравнении полученных нами данных выяснилось, что при действии пуринсодержащих циклических нуклеотидов более выражено изменяется содержание я-РНК, в обогащенной нейрональной фракции, а при действии пиримидинсодержащих—обогаченной глиальной фракции.

На основе наших и литературных данных (8,9,22) можно прийти к заключению, что циклические нуклеотиды наряду с внутриклеточной функцией (1,2) у высших животных сохраняют и наиболее древнюю—внеклеточную. Экзогенные циклические нуклеотиды связываются со специфическим рецептором, стимулируют фосфорилирование мембранных белков, в результате чего наступает активация функции клеток.

Ереванский медицинский институт
Институт экспериментальной биологии
Академии наук Армянской ССР

Կորիզային ՌՆԹ-ի պարունակությունը գլխուղեղի նեյրոնային և գլխալ հարստացված ֆրակցիաներում պուրին և պիրիմիդին պարունակող ցիկլիկ նուկլեոտիդների ազդեցության դեպքում

Փորձերը կատարվել են սպիտակ առնետների վրա: Ցիկլիկ նուկլեոտիդները ներմուծվել են ներցիստերնալ: Նեյրոնային և գլխալ հարստացված ֆրակցիաները ստացվել են Բլոմստրանդի և Համբերգերի ձևափոխված մեթոդով⁽¹⁵⁻¹⁷⁾: Կորիզային ՌՆԹ-ն մաքրել և քանակապես որոշել ենք Գ. Ս. Խաչատրյանի մշակած կոմբինացված մեթոդով⁽¹⁸⁾:

Նորմալում կորիզային ՌՆԹ-ի պարունակությունը նեյրոններում Երեք անգամ բարձր է քան գլխալ բջիջներում: 3', 5' — AMP-ն և 2', 3' AMP-ն իջեցնում են կորիզային ՌՆԹ-ի պարունակությունը, սակայն 3', 5' AMP-ի ազդեցության դեպքում ցիտոպլազմայի ՌՆԹ-ի պարունակությունը բարձրանում է, իսկ 2', 3' AMP-ի դեպքում՝ իջնում: 3', 5' GMP-ն կորիզային ԱՌԼ տիպի ՌՆԹ-ի պարունակությունը բարձրացնում է, իսկ ԳՑ տիպինը՝ իջեցնում: Պիրիմիդինային ցիկլիկ նուկլեոտիդներից 3', 5' GMP-ն բարձրացնում է թե՛ ԳՑ, թե՛ ԱՌԼ տիպի կորիզային ՌՆԹ-ի պարունակությունը երկու բջջային ֆրակցիաներում: 3', 5' UMP-ն իր ազդեցությամբ նման է 3', 5' AMP-ին գլխալ բջիջների նկատմամբ: Իսկ նեյրոններում փոփոխություններ չի առաջացնում:

ЛИТЕРАТУРА — Գ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

- ¹ I. Weinryb, *Perspect. Biol. and Med.*, v. 22, 415 (1979). ² M. Haidmous, J. C. Koujoumdjian, P. A. Briley e. a. *Euro. J. Pharmacol.*, v. 63, 287 (1980). ³ Գ. Ս. Խաչատրյան, *Биохимия нуклеиновых кислот и высшие функции головного мозга*, Айкастан, Ереван, 1981. ⁴ P. H. Этинггоф, Н. Л. Думлер, *Нейрохимия*, т. 1, 87 (1982). ⁵ M. Yamamoto, Y. Nishizuka, *J. Biochem.*, v. 81, 1857 (1977). ⁶ L. Dokas D. Rittsthoft, L. J. Kleinsmith, *Arch. of Biochem. and Biophys.*, v. 191, 578 (1978). ⁷ J. R. Neimann, A. O'Meara, R. L. Hermann, *Biochem J.*, v. 171, 123 (1979). ⁸ R. N. Walsh, *Int. J. Neurosci.*, v. 11, 77 (1980). ⁹ I. B. Levitan, J. Norman, *Brain Res.*, v. 187, 415 (1980). ¹⁰ J. P. Schwartz, E. Costa, *J. Biol. Chem.*, v. 255, 2943 (1980). ¹¹ Գ. Ս. Խաչատրյան, Բ. Գ. Ախալկաչյան, Գ. Ս. Նորդանիշվիլի և Կ. Ս. Մարտիրոսյան, *Укр. биохим. журн.* т. 53, 109 (1981). ¹² G. S. Khachatryan, *Tenth Intern. Congr. of Biochem.*, Hamburg, 1976. ¹³ Գ. Ս. Խաչատրյան, *в кн.: Циклазная система и ее роль в регуляции клеточного обмена*, Изд-во ФАН, Ташкент, 1978. ¹⁴ Գ. Ս. Խաչատրյան, *в кн.: Циклические нуклеотиды*, Наука, М., 1979. ¹⁵ C. Blomstrand, A. Hamberger, *J. of Neurochem.*, v. 16, 1401 (1969). ¹⁶ Գ. Ս. Խաչատրյան, *в кн.: Вопросы биохимии мозга*, вып. 12, Изд-во АН АрмССР, Ереван (1977). ¹⁷ O. Z. Sellinger, *Nature new biol.*, v. 230, 263 (1971). ¹⁸ Գ. Ս. Խաչատրյան և Կ. Ս. Մարտիրոսյան, *в кн.: Вопросы биохимии мозга*, вып. 9, Изд-во АН АрмССР, Ереван (1974). ¹⁹ L. Freysz, B. Belth, C. Judes e. a. *J. Neurochem.*, 15, 307 (1968). ²⁰ N. D. Goelberg, M. K. Haddox *Ann. Rev. Biochem.*, 46, 823 (1977). ²¹ A. Bloch, *in: Stdv. in cycl. Nuc. res.*, N. Y., Raven Press, 1979. ²² H. M. Thirlen, W. E. Mushynski, *Biochem et biophys acta*, v. 2, 188 (1979).