

ԱՒԻՆԱԿԻՆԻ ԱԶԻԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՄԻ ՇԱՐՔ Լ-ԱՄԻՆԱԹՔՈՒՆԵՐԻՑ ԱՄԻԱԿԻ ԱՌԱՋԱՑՄԱՆ ՎՐԱ ՍՊԻՏԱԿ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԵՐԻԿԱՄՆԵՐԻ ԿԵՂԵՎԱՑԻՆ ՇԵՐՏՈՒՄ

Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ ադրենալինի փոքր ընկերները խթանում են Լ-գլյուտամինաթթուն, Լ-ասպարագինաթթուն և Լ-օրնիտինը դեամինացնող ֆերմենտների ակտիվությունը: Պարզվել է, որ այդ երևույթը կապված է պրոտեինի կինազային ռեակցիայի ակտիվության և վերոհիշյալ ֆերմենտների ֆոսֆորացման ու ժեղացման հետ, որը բերում է վերջիններիս ակտիվության բարձրացմանը:

A. S. HOVANESSIAN, J. S. GEVORKIAN, I. R. FATALOVA

EFFECT OF EPINEPHRINE ON THE PRODUCTION OF AMMONIA FROM SOME L-AMINOACIDS IN RATS RENAL CORTEX

It was shown that small concentrations of epinephrine, injected in vivo, increase the activity of enzymes involving deamination of L-glutamic, L-aspartic acids and L-ornithine. This is connected with enhancement of protein kinase reaction and phosphorylation of above mentioned enzymes.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бунятыан Г. Х., Оганесян А. С., Геворкян Ж. С. ДАН СССР, 1967, 177, стр. 9517.
2. Бунятыан Г. Х., Геворкян Ж. С., Оганесян А. С., Парсаданян Г. К. ДАН СССР, 1981, 4, стр. 1006.
3. Геворкян Ж. С. ДАН Арм. ССР, 1979, 69, стр. 272.
4. Геворкян Ж. С., Оганесян А. С. Циклические нуклеотиды. Киев, 1980.
5. Conway E. J. Microdiffusion analysis and volumetric error. London, 1947.
6. Fisher A. D. J. Clin. Invest., 1968, 47, 540.
7. Gill J. R., Gasper A. G. J. Clin. Invest., 1971, 50, 112.
8. Klahr S., Navar T., Schoolwerth A. C. Biochem. Biophys. Acta, 1973, 304, 161.
9. Paglilara A. S., Goodman A. D. J. Clin. Invest., 1969, 48, 1408.
10. Saire F. N., Roberts E. J. Biol. Chem., 1958, 233, 1128.
11. Vander A. J. Am. J. Physiol., 1965, 209, 659.

Г. С. ХАЧАТРЯН, М. С. ПЕТРОСЯН

СОДЕРЖАНИЕ ГИСТОНОВЫХ ФРАКЦИЙ И ИХ АЦЕТИЛИРОВАННЫХ ФОРМ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ СОБАК ПРИ ДЕЙСТВИИ АДЕНОЗИНА И ГУАНОЗИНА

Приведена количественная характеристика гистоновых фракций и их ацетильных групп из головного мозга собаки при внутрицистернальном введении аденозина и гуаноина. При этом заметных изменений как в общем выходе гистона, так и отдельных его фракций не обнаружено. Отмечена противоположная направленность действия аденозина и гуаноина на количественные сдвиги в содержании ацетильных групп гистоновых фракций мозга.

Активация деятельности нервной системы может привести к стимуляции синтеза биополимеров и различных веществ в нервных клетках посредством экспрессии генетического аппарата. Ряд литературных данных говорит о возможной роли нейромедиаторов, нейроактивных пептидов, внутриклеточных медиаторов в активации генетического аппарата [4, 8, 21]. Предполагается, что гистоны, а также некоторые другие вещества могут принимать участие в регуляции метаболизма РНК в головном мозге [3]. Известно также, что репрессия и дерепрессия матричной активности хроматина связаны со специфической модификацией гистоновых фракций [18, 22]. Обнаружено, что медикаментозное воздействие влечет за собой изменение характера модификации гистонов [19, 23], которое может отражаться также на деятельности нервной системы. Аденозину принадлежит роль в стимуляции накопления цАМФ в срезах мозга [25]. Нуклеозиды, в частности аденозин, являются ингибиторами реакции генерации постсинаптического потенциала, регулятором которой является 3',5'-АМФ—один из важных внутриклеточных медиаторов передачи сигналов информации. Активация циклазных систем и высвобождение циклических нуклеотидов приводит к фосфорилированию белков посредством протеинкиназных реакций, в том числе и хроматиновых белков, которые структурно и функционально связаны с активностью генетического аппарата [13, 14]. Учитывая важное значение процессов модификации гистонов и других белков хроматина в генной активности, а также роли нуклеозидов в передаче сигналов информации, мы задались целью изучить влияние внутрицистернально введенного аденозина и гуанозина на количественную характеристику гистонов и их ацетилированных форм.

Материал и методика

Опыты ставили на собаках-самцах массой 4—5 кг в возрасте от 1 до 2 лет. Действие нуклеозидов изучали при их внутрицистернальном введении в количестве 750 и 1500 мкг/4 кг массы животного. Выбор концентрации исследуемых нуклеозидов проводился нами на основании работ нашей лаборатории, в которых было показано, что применяемые дозы вызывают индукцию биосинтеза различных классов РНК в головном мозге различных животных. Эксперименты были поставлены нами в пяти сериях. Первая серия служила в качестве контроля. Контрольным животным взамен нуклеозидов вводили физиологический раствор в объеме 1,5 мл. Собакам второй серии экспериментов вводили аденозин в количестве 750 мкг, третьей серии—удвоенную концентрацию аденозина—1500 мкг. Животным четвертой и пятой серии экспериментов вводили гуанозин соответственно 750 и 1500 мкг/4 кг. Через 60 мин после введения нуклеозидов подопытных собак подвергали замораживанию в жидком азоте в специально сконструированной нами камере [6]. Для получения гистоновых фракций из мозговой ткани проводили предварительное выделение ядер клеток по методу Dingman и Sporn [12], Chauveau [11]. После каждого выделения чистоту ядер контролировали микроскопически. Выделение отдельных фракций гистонов проводили по методу Johns [15]. Экстракцию гистонов прово-

дили в полиэтиленовом сосуде со стеклянными шариками при постоянном встряхивании в 0,25 N HCl и 80% этаноле. Все операции проводили в холодильной комнате при температуре +2°C. Для выделения гистонов из мозга количество реагентов и осадителей определяли, исходя из массы выделенных ядер из тимуса [15]. Дополнительное очищение фракций гистонов проводили хроматографией на КМ-целлюлозе по Johns и Butler [17]. В очищенных гистоновых фракциях количество ацетильных групп определяли по методу Phillips [20]. Для гидразинлиза брали 3—8 мг гистона. Хроматографию для определения ацетильных групп проводили на бумаге Schleicher, Schull № 2043 В. Для построения калибровочной кривой использовали стандартный раствор синтезированного нами ДНФ гидразида уксусной кислоты.

Результаты и обсуждение

Из мозга собаки выделяли четыре гистоновые фракции: лизинбогатые—Н1, относительно богатые лизином Н2а, Н2б и аргининбогатые Н3. Данные о выходе гистоновых фракций из мозговой ткани контрольной группы животных приведены в табл. 1.

Таблица 1
Средний выход гистоновых фракций
(в мг/100 мг общего гистона)

Фракции гистонов			
Н1	Н2б	Н2а	Н3
15,59	26,79	39,1	19,5

у животных, подвергнутых влиянию внутрицистернально введенных нуклеозидов, общий выход гистона от массы сырых ядер составляет 2,35%. При хроматографическом исследовании не обнаружено также заметных различий между фракциями гистонов, полученных из мозга собаки контрольной и экспериментальной групп животных. Элюционные профили, количество примесей, содержащихся в основных фракциях, остаются неизменными, по сравнению с данными контрольных опытов.

Во второй части экспериментов изучали количественные сдвиги в содержании ацетильных групп в указанных фракциях. Данные, характеризующие действие аденозина и гуанозина на содержание ацетильных групп в гистонах, приведены в табл. 2.

Как показывают данные таблицы, аденозин в количестве 750 мкг вызывает увеличение количества ацетильных групп в лизинбогатой фракции гистона Н1. При введении удвоенной дозы (1500 мкг) нуклеозид а эффект влияния аденозина оказывался менее выраженным. Во фракции Н2б гистона наблюдается иная картина ацетилирования. Аденозин в количестве 750 мкг вызывает понижение, а 1500 мкг—повышение количества ацетильных групп. Во фракциях же Н2а и Н3 гистонов

обе концентрации внутрицистернально введенного нуклеозида вызывают достоверное повышение содержания ацетильных групп, причем значительное повышение их содержания отмечается при введении 1500 мкг нуклеозида во фракции Н3 гистона.

Таблица 2

Содержание ацетильных групп гистоновых фракций мозга собак при в/ц введении аденозина и гуанозина

Фракции гистонов

Контроль	Нуклеозид	Стат. показ.	Н 1	Н 2в	Н 2а	Н 3
Аденозин		$M \pm m$ п	$99,666 \pm 2,97$ (3)	$90,7 \pm 3,149$ (3)	$156,63 \pm 2,673$ (3)	$115,3 \pm 2,258$ (3)
	750 мкг	$M \pm m$ п р	$115 \pm 2,37$ (3) < 0,05	$79 \pm 4,75$ (3) > 0,05	$177,33 \pm 3,56$ (3) < 0,02	$135,33 \pm 2,97$ (3) < 0,02
	1500 мкг	$M \pm m$ п р	$105,33 \pm 2,97$ (3) > 0,05	$100,33 \pm 4,75$ (3) < 0,05	$173 \pm 3,56$ (3) < 0,05	$151,66 \pm 5,34$ (3) < 0,01
Гуанозин	750 мкг	$M \pm m$ п р	$100,33 \pm 2,97$ (3) > 0,05	$90 \pm 4,16$ (3) > 0,05	$151,66 \pm 4,75$ (3) > 0,05	$120 \pm 1,78$ (3) > 0,05
	1500 мкг	$M \pm m$ п р	$90,333 \pm 3,565$ (3) > 0,05	$79,66 \pm 3,56$ (3) > 0,05	$118,66 \pm 3,56$ (3) < 0,001	$101,66 \pm 2,37$ (3) < 0,05

Эффект влияния внутрицистернально введенного гуанозина на процессы ацетилирования гистона отличается от эффекта действия аденозина. Гуанозин в количестве 750 мкг во фракции Н1 гистона не вызывает заметных сдвигов в содержании ацетильных групп. При действии удвоенной концентрации нуклеозида количество ацетильных групп, наоборот, уменьшается и составляет $90,33 \pm 3,56$ мкмоль/г белка. Следует отметить, что гуанозин в количестве 750 мкг фактически не влияет на содержание ацетильных групп как в лизинбогатых фракциях, так и во фракциях, относительно богатых лизином и аргинином. Как показывают данные таблицы, гуанозин в концентрации 1500 мкг вызывает понижение содержания ацетильных групп во всех исследованных нами фракциях гистонов. Причем данное понижение достоверно для фракции гистонов Н2а и Н3.

Анализ полученных данных показывает противоположную направленность действия аденозина и гуанозина на количественные сдвиги в содержании ацетильных групп гистоновых фракций мозга. Эффект влияния отмеченных нуклеозидов зависит также от их концентрации. Последняя особенно характерна для гуанозина. Малые концентрации введенного нуклеозида не оказывают влияния на содержание ацетильных групп, в то время как большие концентрации его вызывают уменьшение содержания ацетильных групп во всех исследованных фракциях.

В настоящее время доказано наличие мембранных процессов с участием аденозина, сопряженных с аденилатциклазой [10], причем

этот эффект расценивается как гормоноподобное действие аденозина в различных клетках. В литературе интенсивно обсуждается вопрос об активной роли нуклеозидов в регуляции уровня циклических нуклеотидов и их участия в клеточном метаболизме в норме [24] и при патологических состояниях [7]. В частности, Г. С. Хачатряном и соотр. [1, 8] показано, что аденозин, 3',5'-АМФ и некоторые другие молекулярно-сигнализирующие агенты являются положительными индукторами генной активности биосинтеза различных классов РНК в головном мозге. Аденозин, 3',5'-АМФ могут участвовать в рекогносцировке ядрышковой РНК-полимеразы, ответственной за биосинтез р-РНК. Гуанозин, 3',5'-АМФ являются одним из важных факторов инициации активности РНК-полимеразы классов В, ответственной за биосинтез ядерной гетерогенной РНК (предшественник и-РНК) [8, 9].

Вышеприведенные данные, а также данные, полученные нами в отношении ацетилирования гистонов, указывают на активное участие нуклеозидов в генной активности, повышении потенциальных возможностей мозговых клеток для синтеза специфических белков нервной ткани. Не исключена возможность, что под воздействием этих активных веществ повышается также возбудимость нервных клеток, которая влечет за собой ряд изменений в хроматине высших животных, одной из ступеней которых является ацетилирование гистоновых белков. Такое предположение согласуется с данными предыдущих наших исследований, где показано изменение содержания ацетильных групп в отдельных гистоновых фракциях при возбуждении и торможении ЦНС. Углубленное изучение механизма воздействия нуклеозидов и других активных веществ на функцию генетического аппарата—задача наших дальнейших исследований.

Лаборатория биосинтетических реакций мозга
медицинского института

Поступила 4/II 1982 г.

Գ. Ս. ԽԱԶՍԻՐՅԱՆ, Մ. Ս. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ

ՀԻՍՏՈՆԱՅԻՆ ՖՐԱԿՑԻԱՆԵՐԻ ԵՎ ՆՐԱՆՑ ԱՑԵՏԻԼ ԽՄԲԵՐԻ ՔԱՆԱԿԱԿԱՆ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ՇՆԵՐԻ ԳԼԵՈՒՂԵՂՈՒՄ ԱԴԵՆՈԶԻՆԻ ԵՎ ԳՈՒԱՆՈԶԻՆԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅԱՆ ՏԱԿ

Ուսումնասիրվել են շների գլխուղեղից ազատված H1, H2b, H2a և H3 հիստոնային ֆրակցիաները և այդ ֆրակցիաներում ացետիլ խմբերի քանակական տեղաշարժերը ներցիտոերնալ ճանապարհով ներարկված ադենոզինի և գուանոզինի ազդեցության ներքո: Ինչպես ընդհանուր հիստոնում, այնպես և առանձին ֆրակցիաների քանակներում նկատելի փոփոխություն չի գրանցված: Ցույց է տրված ադենոզինի և գուանոզինի ազդեցության տարբերությունը ացետիլ խմբերի քանակական պարունակության վրա:

THE CONTENT OF HISTON FRACTIONS AND THEIR ACETYL
FORMS UNDER THE INFLUENCE OF ADENOSINE AND
QUANOSINE IN THE DOG'S BRAIN

The quantitative characteristics of the dog's brain H1, H2b, Hba and H3 histon fractions and their acetyl groups in intercysternal injection of adenosine and quanosine in the dose 750 and 1500 mcg was studied. No obvious changes in the histon and its fractions have been revealed. The difference between the influence of adenosine and that of quanosine on the quantitative changes of the acetyl groups in the brain is shown.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Антонян А. А., Алавердян А. А., Саркисян Ф. А., Минасянц Р. Т., Хачатрян В. Г., Оганесян М. Х., Хачатрян Г. С. IV Всесоюз. биохим. съезд, т. 1. Тезисы научных сообщений. М., 1979, стр. 178.
2. Ашмарин И. П., Садикова Н. В., Дюрнбаум В. И., Степанова И. С. Укр. биохим. журнал, 1967, 6, стр. 593.
3. Демин Н. Н., Нечаева Г. А. Вopr. биохимии мозга. Ереван, 1974, 9, стр. 171.
4. Кометюани П. А. Вopr. биохимии мозга. Ереван, 1977, 12, стр. 177.
5. Мюльберг А. А., Дюрнбаум В. И., Кокряков В. Н., Чихиржина Г. И., Ашмарин И. П. Биохимия, 1970, 35, 4, стр. 815.
6. Хачатрян Г. С. Биохимия головного мозга при нормальных физиологических условиях. Гексозомонофосфатный шунт в мозгу. Ереван, 1967.
7. Хачатрян Г. С. IV Всесоюз. биохим. съезд, тезисы докладов. М., 1979, стр. 116.
8. Хачатрян Г. С. Биохимия нуклеиновых кислот и высшие функции головного мозга. Ереван, 1981.
9. Хачатрян Г. С., Антонян А. А. и др. VIII Всесоюз. конф. по биохимии нервной системы. Минск, 1980, стр. 6.
10. Bonnafous J. -C., Dornand J., Mani J. -C. FEBS Lett., 1979, 108, 1, 305.
11. Chauveau I., Moule Y., Rouiller C. Exptl. Cell Res., 1956, 11, 317.
12. Dingman C. W., Sporn M. J. Biol. Chem., 1964, 23, 3483.
13. Greengard P. Protein phosphorylat. Contr. Mech., New York-London, 1973, 145.
14. Greengard P. Ions-Cyclic Nucl. chollnergy. Proc. 5th Int. Congr. Pharmacol., Paris, 1978. Oxford e. a. 1979, 231.
15. Johns E. W. Biochem. J., 1964, 92, 55.
16. Johns E. W. J. Bonner and P. Ts'o, ed's, Holden-day, San-Francisco, California, 1964, 52.
17. Johns E. W. Butler J. A. V. Biochem. J., 1962, 82, 15.
18. Pogo B. G. T., Allfrey V. G., Mirsky A. A. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1966, 55, 805.
19. Procaccini R. L., De Fantl D. R., De Feo J. J. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1971, 43, 484.
20. Phillips D. M. P. Biochem. J., 1963, 87, 258.
21. Rose S. P. R. FEBS Lett., 1969, 5, 5, 305.
22. Stevely W. S., Stocken L. A. Biochem. J., 1968, 109, 24.
23. Sarkander H. I., Kemmerle M., Brade W. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharm., 1974, 284, 1, 39.
24. Tsang D., Lal S. Brain Res., 1978, 140, 2, 301.
25. Van Calker D, Muller M., Hamprecht B. J. Neurochem., 1979, 33, 5, 999.