

ких субстратов расщепляются и амидные группы белков головного мозга. И наоборот, при развитии тормозных процессов в мозге, в частности, во время естественного сна, зимней спячки [10], при акклиматизации животных к холоду [11], при медикаментозном сне, вызванном введением нембутала [8] и мексала [12] происходит амидирование белков головного мозга. Показано также увеличение амидированности белков мозга при действии вибрации на организм [13].

Целью настоящей работы явилось исследование амидированности белков мозга крыс и динамики амидных групп при инкубировании гомогенатов мозга крыс, подвергнутых гипоксии.

Материал и методика. Объектом исследования служили белые крысы массой 150-200 г. Подопытные животные были разделены на 2 группы: 1) интактные; 2) подвергнутые гипоксии в барокамере, где создавалось давление 335 мм рт. ст., соответствующее высоте 6 км над ур. м. Животных обеих групп подвергали декапитации, извлекали мозг и гомогенизировали в гомогенизаторе типа Поттер-Эльведжема в 0.05 М K^+ -фосфатном буфере, pH 7.4. До и после 3-часовой инкубации гомогенатов в предварительно очищенных от азотсодержащих соединений и липидов ТХУ-осадках гомогената мозга определяли белковый амидоазот. Очистку проводили следующим образом: ТХУ-осадок трижды промывали 5%-ной ТХУ по 15 мин, последнюю проводили на водяной бане при 90°C в течение 30 мин; затем осадок обрабатывали последовательно органическими растворителями: смесью этанола с хлороформом (2:1) 5 мл, 15 мин; этанолом 5 мл, 15 мин; смесью этанола с эфиром (2:1) 5 мл, 15 мин (обрабатывали дважды, вторую обработку проводили при t 70°C); эфиром трижды 5 мл, 10 мин.

Амидные группы белков определяли по количеству аммиака, выделившегося при гидролизе очищенного осадка в 1N H_2SO_4 при 100°C [4]. При определении суммы амидных групп (САГ) осадки подвергали гидролизу в течение 180 мин, при определении легкогидролизуемых амидных групп (ЛАГ), принадлежащих аспарагину, – 30 мин. Трудногидролизуемые амидные группы (ТАГ), принадлежащие глутамину, определяли по разности САГ и ЛАГ [14]. Содержание аммиака в предварительно нейтрализованном гидролизате определяли микродиффузионным методом Зелингсона в модификации Силаковой [15]. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием коэффициента Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Данные, полученные при исследовании амидированности белков мозга интактных и подвергнутых гипоксии крыс, приведены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Содержание амидного азота белков головного мозга крыс до и после 3-часовой инкубации гомогенатов (мкМ/г свежей ткани, n=8, p<0.001)

Условие опыта	САГ	ЛАГ	ТАГ
До инкубации	25.45±0.4	12.50±0.26	12.95±0.51
После инкубации	25.57±0.31	15.90±0.31	9.67±0.41
Разница	0.12	3.40	3.28

Как видно из табл. 1, при 3-часовой инкубации гомогенатов САГ белков мозга в интактной группе животных не меняется и составляет 25.45 и 25.57 мкМ/г до и после инкубации соответственно. Таким образом, нами подтверждается сделанное ранее заключение о непричастности амидных групп белков мозга к аммиакообразованию, происходящему при инкубации гомогенатов [1]. В течение инкубации происходит лишь некоторое перераспределение амидного азота между ЛАГ (12.5 мкМ/г до и 15.9 мкМ/г после инкубации) и ТАГ (12.95 мкМ/г до и 9.67 мкМ/г после инкубации). На перераспределение между фракциями амидных групп белков при различных функциональных состояниях мозга в результате трансконформационных изменений последних указывал и ряд других авторов [16, 17].

Результаты исследований амидированности белков мозга крыс, подвергнутых гипоксии, приведены в табл. 2.

Таблица 2

Содержание амидного азота белков головного мозга крыс, подвергнутых гипоксии, до и после 3-часовой инкубации гомогенатов (мкМ/г свежей ткани, n=8, p<0.001)

Условие опыта	САГ	ЛАГ	ТАГ
До инкубации	30.96±0.25	16.88±0.18	14.08±0.13
После инкубации	25.95±0.24	13.02±0.21	12.93±0.28
Разница	5.01	3.86	1.15

Как видно из полученных данных, под воздействием гипоксии происходят определенные изменения в содержании амидных групп белков мозга. Так, САГ при гипоксии увеличивается и составляет 30.96 мкМ/г, что превосходит суммарное содержание амидных групп у интактных животных на 5.51 мкМ/г. Очевидно, под воздействием гипоксии происходит амидирование белков мозга, что имеет место при развитии тормозных процессов.

При инкубации гомогенатов мозга крыс, подвергнутых гипоксии, наблюдается иная картина, нежели у интактных животных. В экспериментах с гипоксией происходит уменьшение САГ белков мозга в процессе 3-часовой инкубации. Если до инкубации САГ белков составляет 30.96 мкМ/г, то после инкубации амидированность белков снижается до 25.95 мкМ/г, что свидетельствует о дезамидировании амидных групп белков мозга на 5.01 мкМ/г в процессе инкубации.

Содержание ЛАГ и ТАГ в белках мозга крыс под действием гипоксии также увеличивается по сравнению с интактными животными. При этом более значительное увеличение амидных групп происходит в ЛАГ. Их содержание составляет 16.88 мкМ/г, т.е. происходит амидирование белков этой фракции на 4.38 мкМ/г. Количество ТАГ увеличилось на 1.13 мкМ/г и составило 14.08 мкМ/г. В процессе инкубации гомогенатов мозга наблюдается дезамидирование обеих фракций, причем во фракции ЛАГ

снижение амидированности значительно (на 3.86 мкМ/г), чем в ТАГ (на 1.15 мкМ/г).

На основании приведенных данных можем заключить, что под действием гипоксии происходит амидирование белков мозга крыс, имеющее место при развитии тормозных процессов в мозге. При инкубировании же гомогенатов мозга крыс происходит дезамидирование белков мозга, что свидетельствует об их участии в аммиакообразовании, происходящем в процессе инкубации гомогенатов мозга крыс, подвергнутых гипоксии.

Существенно, что наблюдаемое при гипоксии амидирование белков мозга, как и их дезамидирование в процессе инкубации гомогенатов происходит за счет ЛАГ, принадлежащих аспарагину.

Ереванский государственный университет

И. А. Бадалян, А. С. Дилбарян, академик М. А. Давтян

**Амидированность белков головного мозга крыс
при гипоксии**

Исследовались амидированность белков головного мозга крыс, подвергнутых гипоксии, и изменение содержания амидных групп белков при инкубировании гомогенатов мозга. Показано, что в условиях гипоксии происходит амидирование белков мозга, присущее процессам торможения. В течение 3-часовой инкубации наблюдалось дезамидирование в суммарной, легко- и трудногидролизуемых фракциях амидных групп белков мозга, что позволяет предположить, что амидные группы белков головного мозга крыс, подвергнутых гипоксии, причастны к аммиакообразованию, наблюдаемому при инкубации гомогенатов мозга.

**Ի.Ա. Բադալյան, Ա.Ս. Դիլբարյան,
ակադեմիկոս Մ. Ա. Դավթյան**

**Առնետների գլխուղեղի սպիտակուցների ամիդացումը
հիպօքսիայի պայմաններում**

Հետազոտվել է հիպօքսիայի ենթարկված առնետների գլխուղեղի սպիտակուցների ամիդացումը, ինչպես նաև սպիտակուցների ամիդային խմբերի պարունակության փոփոխությունը ուղեղի հոմոգենատները ինկուբացնելիս: Ցույց է տրված, որ հիպօքսիայի պայմաններում տեղի է ունենում ուղեղի սպիտակուցների ամիդացում, արգելակման պրոցեսներին բնորոշ: Երեքժամյա ինկուբացիայի ընթացքում դիտվում է դեկամիդացում գումարային, հեշտ և դժվար հիդրոլիզվող ամիդային խմբերի ֆրակցիաներում, ինչը թույլ է տալիս ենթադրել, որ հիպօքսիայի ենթարկված առնետների գլխուղեղի սպիտակուցների ամիդային խմբերը մասնակցում են ամոնիակառաջացմանը, որը դիտվում է գլխուղեղի հոմոգենատները ինկուբացնելիս:

I. A. Badalyan, A. S. Dilbaryan, academician M. A. Davtyan

Amidation of Rats Brain Proteins during Hypoxia

Amidation of rats brain proteins, as well as some changes in the content of amide groups during the incubation of brain homogenates, have been studied. It is shown, that amidation of brain proteins typical for inhibition processes takes place under hypoxia. During the 3 hour incubation it was observed the desamidation in the fractions of total, easy, and hard hydrolysable amide groups of rat proteins. It allows to assume, that amide groups of rats brain proteins in hypoxia take part in ammonia formation processes, which observed during the incubation of brain homogenates.

Литература

1. *Бадалян И.А., Давтян М.А.* – Нейрохимия. 1986. Т. 5. № 4. С. 384-390.
2. *Бадалян И.А., Григорян А.Л.* – Учен. зап. ЕГУ. 2005. № 3. С. 151-153.
3. *Кометиани П.А., Клейн Е.Э., Иорданишвили Г.С., Гвалия Н.В., Чикваидзе В.Н.* В кн.: Вопросы биохимии нервной и мышечной систем. Тбилиси. Мецниереба. 1965. С. 41-63.
4. *Гершенович З.С., Кричевская А.А.* – Биохимия. 1960. Т. 25. № 2. С. 310-317.
5. *Новикова Е.И.* – Ростовский ун-т. 1980. Деп. в ВИНТИ 12 августа 1980 г. № 3555-80.
6. *Тягельд Л.Я.* - ДАН СССР. 1962. Т. 147. № 4. С. 964-966.
7. *Френкель С.Р., Гордиенко Э.А.* В кн.: III Всесоюзн. конф. по биохимии нервной системы. Ереван. Изд-во АН АрмССР. 1963. С. 223-235.
8. *Кометиани П.А.* - Биохимия. 1970. Т. 35. № 2. С. 394-403.
9. *Векслер И.Я., Магомедова К.М.* - Укр. биохим. ж. 1981. Т. 53. С. 7-12.
10. *Владимирова Е.А.* В кн.: Биохимия нервной системы. Киев. Изд-во АН УкрССР. 1954. С. 47-62.
11. *Готлобер И.В.* В кн.: Материалы III Сев.-Кав. биохим. конф. Ростов-на-Дону. Изд-во РГУ. 1976. С. 94-95.
12. *Тягельд Л.Я.* – Вопр. мед. химии. 1962. Т. 8. № 3. С. 264-270.
13. *Симолян Л.П., Папян К. М., Бадалян И.А.* В кн.: Материалы республиканской молодежной научн. конф. «Экологическая наука в Армении». 2001. С. 146-153.
14. *Кричевская А.А., Лукаш А.И., Пушкина Н.В., Херувимова В.А.* - Эволюц. биохим. и физиол. 1973. Т. 2. С. 206-208.
15. *Силакова А.И., Труш Г.П., Являкова А.* - Вопр. мед. химии. 1962. Т. 8. № 5. С. 538-544.
16. *Гаевская М.С., Носова Е.А., Слез Л.М.* - Укр. биохим. ж. 1965. Т. 37. № 5. С. 691-696.
17. *Папян А.А.* - Журн. экспер. и клинич. медицины. 1974. Т. 14. № 5. С. 28-32.