Доклады Академии наук СССР
1955. Том 102, № 3

БИОХИМИЯ

К. Г. МАНУКЯН

ОБМЕН ФОСФОРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И ФОСФОЛИПИДОВ МОЗГА КРОЛИКА В ОНТОГЕНЕЗЕ

(Представлено академиком К. М. Быковым 31 1955)

Сильно возросший в последние годы интерес к нуклеиновым кислотам и фосфолипидам нервной ткани привел к появлению ряда исследований по изучению скорости обмена этих соединений в ткани мозга при помощи радиоактивного фосфора. Однако до сих пор обмен нуклеиновых кислот мозга в онтогенезе животных еще мало изучен.

В предыдущей нашей работе ([1]) приводились данные по изменению содержания нуклеиновых кислот и фосфолипидов в различных отделах мозга кролика в ходе индивидуального развития. В настоящем исследовании при помощи радиоактивного изотопа фосфора P^{32} изучалась сравнительная скорость обмена этих соединений в коре больших полушарий, мозжечке, продолговатом и спинном мозге кролика в онтогенезе. Исследовался мозг кроликов различных возрастов, начиная от 20-дневных эмбрионов и кончая взрослыми животными.

Методика. Раствор меченого фосфата натрия вводился подкожно из расчета 0,5 мк P^{32} и 7—8 мг P^{31} на 1 кг веса животного. Через 12 час. кролик под эфирным наркозом убивался обезглавливанием. При исследовании мозга эмбрионов радиоактивный фосфат вводился подкожно матери. Через 12 час. под эфирным наркозом вскрывалась брюшная полость и извлекались эмбрионы. Пробы мозга по возможности быстро очищались от крови и мозговых оболочек и замораживались в твердой углекислоте. Навески ткани экстрагировались 7% трихлоруксусной кислотой. Из трихлоруксусного экстракта осаждался магнезиальной смесью неорганический фосфат (НФ) ткани. Липиды экстрагировались спирто-хлороформенной и спирто-эфирной смесями.

Нуклеиновые кислоты выделялись после щелочного гидролиза белкового осадка ткани по Шмидту и Тангаузеру. Метод этот не дает возможности выделить из нервной ткани рибонуклеиновую кислоту (РНК) и дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) свободными от фосфорсодержащих примесей, в том числе высокоактивных ([2], [3]). Поэтому, несмотря на видоизменения, внесенные нами в методику Шмидта и Тангаузера, мы можем говорить о выделении не самих нуклеиновых кислот, а лишь фракций РНК и ДНК.

Выделенные фосфорные фракции после минерализации исследовались на радиоактивность и содержание фосфора и вычислялась удельная активность (у. а.) (имп/мин на 1 μг Р). Определялась также радиоактивность и концентрация неорганического фосфата плазмы крови.

Скорость обмена фосфорных соединений в мозговом веществе выражалась в виде процента обновления фосфора фракций. % обновления Р фосфорной фракции $= \frac{\text{у. а Р фосф. фракции}}{\text{у. а. НФ мозга}} \times 100$.

Вычислялась также величина относительной у. а. (о. у. а.) неорганического фосфата мозга, дающая представление о скорости проникновения меченого фосфата из крови в ткань мозга,

$$\text{о. у. а. НФ мозга} = \frac{\text{у. а. НФ мозга}}{\text{у. а. НФ плазмы крови}}.$$

Результаты. В табл. 1 приведены данные по изменению о. у. а. НФ мозга в онтогенезе. Приведенные цифры показывают, что скорость проникновения меченых фосфатов из крови в ткань мозга на ранних стадиях развития высока во всех отделах. Понижаясь к концу эмбрионального развития, она снова возрастает после рождения. Этот кратковременный подъем сменяется быстро идущим, неуклонным падением. В течение первого месяца постнатальной жизни о. у. а. НФ мозга резко снижается во всех отделах. В дальнейшем происходит лишь очень незначительное уменьшение скорости проникновения меченых фосфатов из крови в ткань мозга. О. у. а. НФ мозга в эмбриональном и в первые дни постэмбрионального периода примерно одинакова во всех отделах мозга. В дальнейшем в коре, мозжечке и спинном мозге о. у. а. НФ снижается в 8—9 раз, в продолговатом же в 4—5 раз. В силу этого уже у месячных кроликов, а также у взрослых, по скорости проникновения меченых фосфатов из крови продолговатый мозг стоит выше остальных отделов, что соответствует данным других авторов (4).

Таблица 1

Возраст в сутк.	Кора	Мозжечок	Продолг. мозг	Спинной мозг
Эмбрион. период				
20	0,538	0,495	0,453	0,473
22	0,407	0,441	0,418	0,453
25	0,436	0,405	0,412	0,446
26	0,378	0,470	0,581	—
30	0,229	0,310	0,281	0,345
Постэмбр. период				
1	0,449	0,666	0,580	0,624
2	0,342	0,529	0,434	0,445
6	0,340	0,405	0,384	0,474
10	0,329	0,328	0,378	0,389
17	0,216	0,256	0,341	0,338
30	0,080	0,083	0,162	0,126
Взрослый	0,057	0,056	0,110	0,067

Скорость обновления Р фракции РНК на всем протяжении онтогенеза во всех отделах значительно выше скорости обновления Р фракции ДНК, но соотношение между скоростями обновления этих фракций в ходе онтогенеза меняется.

Кора на ранних стадиях развития, наряду с высоким содержанием ДНК, отличается и сравнительно высокой скоростью обновления ее фосфора (рис. 1). У 20-дневных эмбрионов скорость обновления ДНК в 2,5 раза выше, чем у 1-месячных кроликов. В последнюю треть эмибриогенеза происходит быстрое падение концентрации ДНК в коре и одновременно падает скорость ее обновления. В течение всего постнатального периода развития скорость обновления ДНК в коре остается на низком уровне.

Скорость обновления фракции РНК в коре остается почти неизменной на всем протяжении онтогенеза (рис. 1), содержание же ее снижается. Иную картину по обновлению Р фракции ДНК в онтогенезе дает мозжечок (рис. 1). У взрослых животных он, наряду с высоким содержанием ДНК, отличается очень низкой скоростью ее обновления (в 4—5 раз ниже, чем в других отделах). У 20—22-дневных эмбрионов мозжечок, наоборот, обладает высокой скоростью обновления ДНК, лишь несколько уступающей скорости обновления ДНК в коре. В период от 25 дня эмбриогенеза до 6 дня постнатального развития по скорости обновления Р ДНК мозжечок преобладает над всеми остальными отдела-

ми. В мозжечке 20-дневных эмбрионов ДНК обновляется в 4 раза быстрее, чем у взрослых кроликов. Скорость ее обновления несколько повышается к моменту рождения и особенно после рождения — на 2—6 дни постнатального развития. Это совпадает с увеличением содержания ДНК в этом периоде. С 6 по 10 день интенсивность обмена ДНК резко падает и в дальнейшем продолжает снижаться, тогда как содержание ее остается высоким. Возможно, в это время идет накопление какой-то более инертной в обменном отношении (по фосфору) ДНК. К месячному возрасту скорость обновления Р ДНК в мозжечке достигает очень низкого уровня, характерного для взрослых животных.

Скорость обновления Р фракции РНК (рис. 1) в мозжечке мало изменяется в ходе онтогенеза. Давая некоторые колебания, находящиеся в пределах ошибки методики, она в основном остается на постоянном уровне.



Рис. 1. Изменение скорости обновления Р нуклеиновых кислот и фосфолипидов мозга кролика в онтогенезе. *I* — ДНК; *II* — РНК, *III* — фосфолипиды

Продолговатый и спинной мозг по скорости обновления фосфора фракций РНК и ДНК в онтогенезе имеют много общего. Кривая обновления Р ДНК в этих отделах имеет довольно ровный ход, несколько повышаясь в спинном мозге с середины первого месяца постнатальной жизни. В раннем эмбриональном периоде (20—22-дневные эмбрионы) скорость обновления Р ДНК в продолговатом и спинном мозге значительно ниже, чем в коре и мозжечке. Скорость обновления Р фракции РНК в продолговатом и спинном мозге в течение эмбрионального и постнатального развития растет, становясь к 15-дневному возрасту выше, чем в коре и мозжечке. У месячного кролика процент обновления Р фракции РНК в этих отделах в 2 раза выше, чем в коре, и в 1,5 раза выше, чем в мозжечке.

Высокая скорость обновления Р фракции РНК в каудальных отделах на более поздних стадиях развития объясняется, повидимому, тем, что с возрастом нарастает содержание белого вещества мозга в этих отделах, которое, по данным ряда авторов [5] и по нашим, богато высокоактивным «инозитидным» фосфором, попадающим во фракцию РНК при обработке по Шмидту и Тангаузеру. У взрослых кроликов белое вещество больших полушарий также обладает высокой скоростью обновления Р фракции РНК (обновление Р РНК в коре взрослых кроликов равно 15%, в белом веществе больших полушарий 33%, в мозжечке 18%, в продолговатом мозге 25%, в спинном 28%).

Если сопоставить изменение содержания нуклеиновых кислот в онтогенезе с изменением скорости их обновления, то трудно установить какое-либо постоянное соотношение между этими величинами. Это касается всех изучавшихся отделов мозга. В одних случаях высокому содержанию соответствует и высокая скорость обновления, в других при высоком со-

держании скорость обновления низка, в третьих низкое содержание сопровождается высокой скоростью обновления. Объяснение этим фактам следует искать, повидимому, по линии изменяющихся в онтогенезе форм связи РНК и ДНК с белком — лабильной или прочной, локализации их в различных структурных образованиях клетки, меняющейся метаболической активности всей молекулы или каких-нибудь частей ее и т. д.

Фосфолипиды мозга (рис. 1) обнаруживают высокую скорость обновления Р на ранних стадиях развития, что соответствует литературным данным ([4], [6]). Она почти одного порядка со скоростью обновления Р фракции РНК, тогда как у взрослых животных фосфолипиды обновляются значительно медленнее, чем РНК.

Скорость обновления фосфора фосфолипидов сохраняется на высоком и примерно одинаковом во всех отделах уровне в течение первых двух недель постнатального развития, затем снижается. Значительно понижаясь к месячному возрасту, она продолжает уменьшаться и в дальнейшем. Снижение скорости обновления в ходе онтогенеза более всего выражено в спинном мозге. У взрослых кроликов скорость обновления Р фосфолипидов в спинном мозге в 2—3 раз ниже, чем в других отделах. По скорости обновления фосфолипидов у взрослого кролика кора больших полушарий несколько преобладает над всеми остальными отделами.

Если сопоставить скорость обновления фосфолипидов с изменением их содержания в ходе онтогенеза ([1]), то оказывается, что замедление обмена фосфолипидов приходится как раз на тот период, когда идет усиленное накопление их в ткани мозга. Вероятно, замедление обмена связано с процессом миэлинизации нервных волокон, с накоплением более инертных в обменном отношении фосфолипидов оболочек нервных проводников.

Институт физиологии им. И. П. Павлова
Академии наук СССР

Поступило
1 XII 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] К. Г. Манукян, ДАН, **101**, № 6 (1955). [2] Дж. Дэвидсон, Сборн. Изотопы в биохимии, ИЛ, 1953. [3] Т. Н. Иванова, Н. И. Правдина, ДАН, **95**, № 4, 845 (1954). [4] А. А. Смирнов, Д. А. Четвериков, ДАН, **90**, № 4, 631 (1953). [5] J. E. Logan, W. A. Mannell, R. J. Rossiter, Biochem. J., **51**, 4, 470 (1952). [6] B. A. Fries, G. W. Changus, Y. L. Chaikoff, J. Biol. Chem., **132**, 1, 23 (1940).