

Б. А. МНАЦАКАНЯН, Г. Т. АДУНЦ

ОБ АКТИВНОСТИ НЕЙРАМИНИДАЗЫ И СОДЕРЖАНИИ СВЯЗАННОЙ И СВОБОДНОЙ N-АЦЕТИЛНЕЙРАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ТКАНЯХ БЕЛЫХ КРЫС

Исследовались активность фермента нейраминидазы и содержание свободной и связанной N-ацетилнейраминовой кислоты в различных органах взрослых крыс. Выяснилось, что высокой нейраминидазной активностью обладает слизистая тонкого кишечника, а мозг проявляет наименьшую ферментативную активность.

Существует определенная корреляция между количеством связанной N-ацетилнейраминовой кислоты и активностью фермента.

В последние годы уделяется большое внимание роли сиаловых кислот, поскольку эти соединения играют важную роль в жизнедеятельности организма. Сиаловые кислоты—это групповое название ацилированных нейраминовых кислот. Благодаря наличию в их молекуле различных функциональных групп (кето-, аминных, карбоксильных) они обладают большой метаболической активностью [1, 4].

Нейраминовая кислота в организме проявляется в двух формах—связанной и свободной. Связанная нейраминовая кислота в молекуле гликопротеидов, гликолипидов обычно занимает концевое положение; она имеет наибольшее распространение в организме. Незначительные количества нейраминовой кислоты в свободном виде обнаруживаются в животном организме в виде ацильных производных [1, 7]. Биологическая роль нейраминовой кислоты мало изучена, несмотря на ее большое физиологическое значение. Она в большом количестве входит в состав многих гликопротеидов. Большое количество этих гликопротеидов содержится в секретах слизистых оболочек дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта, которые часто являются входными воротами инфекции [8, 9]. Молекула гликопротеида представлена двумя спиралевидными структурами. Полипептидная цепь, занимающая внутреннее положение в молекуле, является конфигурационно α -спиралью. В составе молекулы гликопротеида имеется также мукополисахаридное производное, образующее β -спираль. Концевое положение в этой спирали занимает N-ацетилнейраминовая кислота. Подобная конформация гликопротеидов обеспечивает их высокую устойчивость к воздействию протеаз и, следовательно, обуславливает их защитную функцию. Недаром почти все иммунные тела по своему химическому строению являются гликопротеидами.

В обмене гликопротеидов большая роль принадлежит ферменту нейраминидазе, под действием которого отщепляется концевая нейраминная кислота [2, 6]. Такая молекула гликопротеида теряет протеолитическую устойчивость и легко поддается протеолизу [3, 7, 10, 11, 12].

Несмотря на большое биологическое значение нейраминидазы, одновременно изучению ее активности и сдвигов в содержании N-ацетилнейраминной кислоты (свободной и связанной) в различных животных тканях уделено мало внимания. Этой цели служит настоящее исследование.

Методика исследования. В опытах были использованы головной мозг, печень, почки, слизистая тонкого кишечника взрослых крыс. Содержание N-ацетилнейраминной кислоты определяли тиобарбитуровым методом Уоррена [13] в модификации Цветковой и Козиной [5]. Нейраминидазную активность определяли в гомогенатах тканей, приготовленных на 0,1 М ацетатном буфере при pH 4,4. В качестве субстрата использовали N-ацетилнейраминиллактат (препарат фирмы Sigma). Об активности фермента судили по приросту N-ацетилнейраминной кислоты в инкубационной среде.

Результаты и обсуждение. Из данных, приведенных в табл. 1, видно, что содержание свободной N-ацетилнейраминной кислоты при экстракции в течение 30 мин составляет в мозге—36,6, печени—70,0, почках—44,5, слизистой тонкого кишечника—30,2 мкг/г свежей ткани. Наибольшее количество свободной N-ацетилнейраминной кислоты обнаружено в печени, наименьшее—в слизистой тонкого кишечника.

Таблица 1
Содержание свободной N-ацетилнейраминной кислоты в различных органах взрослых крыс, мкг/г ткани

Органы	Экстракция	
	30 мин	60 мин
Мозг	36,6±0,71	43,7±1,47
Печень	70,0±2,3	70,8±1,74
Почки	44,5±1,67	40,0±0,82
Слизистая тонкого кишечника	30,2±0,98	30,6±0,29
	$M \pm m$	$M \pm m$

Сравнение данных при различной продолжительности экстракции показывает, что увеличение содержания N-ацетилнейраминной кислоты после 60-минутной экстракции наблюдается только в гомогенате мозга (на 12%).

В табл. 2 приведены данные относительно содержания связанной N-ацетилнейраминной кислоты в тех же органах в указанных условиях экстракции. Оказывается, продолжительность срока экстракции существенно не влияет на содержание связанной формы в гомогенатах печени, почек, слизистой тонкого кишечника. Что же касается гомогената мозга, то с увеличением срока экстракции наблюдается некоторое уменьшение содержания связанной N-ацетилнейраминной кислоты (в

среднем на 12,2%), что, по-видимому, можно объяснить распадом ее в тканях мозга. Наибольшее количество связанной N-ацетилнейраминовой кислоты обнаружено в слизистой тонкого кишечника, где оно достигает 438,8 мкг/г, в то время как в почках составляет—350,8, в печени—310,4, а в мозге—267,0 мкг/г ткани.

Таблица 2

Содержание связанной N-ацетилнейраминовой кислоты в различных органах взрослых крыс, мкг/г ткани

Органы	Экстракция	
	30 мин	60 мин
Мозг	312,5±2,34	267,0±0,47
Печень	325,0±0,45	310,0±1,79
Почки	376,0±1,08	350,8±0,34
Слизистая тонкого кишечника	434,4±1,77	438,8±0,32
	M±m	M±m

Таблица 3

Активность фермента нейраминидазы в различных органах взрослых крыс, мкг/г ткани

Органы	M±m
Мозг	85,8±2,01
Печень	134,0±0,48
Почки	245 ±1,43
Слизистая тонкого кишечника	338,8±1,7

В табл. 3 приведены данные, показывающие активность нейраминидазы в гомогенатах различных органов крыс. Наибольшей нейраминидазной активностью обладает слизистая тонкого кишечника (в среднем 338 мкг/г ткани), а наименьшей—ткань мозга (85,8 мкг/г ткани).

Эти данные позволяют предполагать существование определенной корреляции между активностью фермента и содержанием связанной N-ацетилнейраминовой кислоты: в тех органах, где ферментативная активность высокая, количество связанной нейраминовой кислоты наибольшее, в тех же органах, где она низкая, количество связанной нейраминовой кислоты оказывается незначительным.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 6.VII 1972 г.

Р. А. ՄՆԱՅԱԿՅԱՆ, Գ. Տ. ԱԴՈՒՆ

ԿԱՊՎԱԾ ԵՎ ԱԶԱՏ N-ԱՅԵՏԻԼՆԵՅՐԱՄԻՆԱԹԹՎԻ ՔԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎ ՆԵՅՐԱՄԻՆԻԴԱԶՅԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ՍՊԻՏԱԿ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՏԱՐԲԵՐ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է հասուն առնետների տարբեր հյուսվածքների նեյրամինիդազայի ակտիվությունը ինչպես նաև ազատ և կապված նեյրամինաթթվի քանակությունը:

Պարզվել է, որ ազատ նեյրամինաթթվի քանակությունը կազմում է՝ լյարդում՝ 70, երիկամներում՝ 45, ուղեղում՝ 36, բարակ աղիքների լորձաթաղանթում՝ 30 մկգ:

Կապված նեյրամինաթթվի քանակությունը՝ համապատասխանաբար 310, 350, 267, 438 մկգ:

Նեյրամինիդազան ադիբներում հանդես է գալիս ամենաբարձր իսկ ուղեղում՝ ամենացածր ակտիվությամբ: Ֆերմենտի ակտիվությունը երիկամներում կրկնակի անգամ աճել է քան լյարդում:

Գոյություն ունի կապված նեյրամինաթթվի և ֆերմենտի ակտիվության միջև որոշակի կոռելացիա. այն օրգաններում, որտեղ կապված նեյրամինաթթվի քանակությունը շատ է, ֆերմենտի ակտիվությունը բարձր է:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Линевиц Л. И. Успехи биологической химии, 4, 193, М., 1962.
2. Линевиц Л. И. Успехи биологической химии, 4, 207, М., 1962.
3. Розенфельд Е. Л. Успехи биологической химии, 4, 218, М., 1962.
4. Цветкова И. В. Вопросы медицинской химии, 2, 115, М., 1963.
5. Цветкова И. В. и Козина А. Б. Биохимия, 5, 409, М., 1966.
6. Gottschalk A. Advances Enzymol., 20, 135, 1958.
7. Gottschalk A. The Chemistry and Biology of sialic Acids, Cambridge, 1960.
8. Gottschalk A. The Chemistry and Biology of sialic Acids and Related substances. Cambridge, London, 1960.
9. Gottschalk A., Whitten W. K., Graham E. R. Biochim. biophys. Acta, v. 38, p. 183, 1960.
10. Gottschalk A. Nature, 186, 449, 1960.
11. Graham E. and Gottschalk A, Biochim et biophys. Acta, 38, 513, 1960.
12. Romanowska E. Naturwissenschaften, 3, 66, 1960.
13. Warren L. J. Biol. Chem., v 234, p. 1971, 1959.