

УДК 612.8.015.11+591.481.1

ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ В ГОЛОВНОМ МОЗГУ

ЕЩЕНКО Н. Д.

На основании обзора литературы и собственных экспериментальных данных в статье рассмотрены основные механизмы, участвующие в регуляции цикла трикарбонных кислот как единой метаболической системы. Особое внимание обращено на механизмы, контролирующие пироватдегидрогеназную, пирватентазную и изоцитратдегидрогеназную реакции. Проведено сравнение преимущественных путей регуляции цикла трикарбонных кислот в головном мозгу и других тканях.

В настоящее время можно считать доказанным, что высокий уровень энергетического обмена является характерной чертой метаболизма нервной ткани. Установлена тесная взаимосвязь между интенсивностью энергетического обмена и функциональной активностью головного мозга [1—5]. Однако вплоть до последнего времени нейрохимии не располагали сведениями о специфических чертах биохимических реакций, протекающих в головном мозгу интактного животного, и о регуляторных механизмах, обуславливающих высокую интенсивность энергетического обмена. Недостаточность литературных данных по этому вопросу объясняется сложной и гетерогенной структурой мозга, наличием ГЭБ и другими причинами, что затрудняет интерпретацию экспериментальных данных и экстраполяцию результатов, полученных *in vitro*, на мозг интактного животного. Отражением клеточной и субклеточной гетерогенности мозга служит метаболическая компартментализация, столь характерная для нервной ткани [6—8].

В данной статье мы остановимся на некоторых специфических для нервной ткани особенностях регуляции цикла трикарбонных кислот (ЦТК). В последние годы в литературе появились сведения о регуляторных механизмах, контролирующих скорость потока метаболитов по циклу, то есть интенсивность ЦТК как единой метаболической системы в тканях животных [9—12].

В головном мозгу взрослых животных основной функцией ЦТК является окисление ацетильных фрагментов CoASAc до CO_2 и H_2O ; иными словами, в нервной ткани ЦТК действует главным образом как энергетический механизм [2—5].

В мозгу в отличие от других тканей (печень, почки, скелетная мышца и др.) промежуточные компоненты цикла используются весьма не-

значительно для разнообразных синтетических реакций. Именно этим объясняется то, что интенсивность потока метаболитов через ЦТК в головном мозгу прямо пропорциональна потреблению кислорода тканью [12, 13].

Одним из важнейших факторов, способных регулировать скорость потока в метаболических циклах, является доступность и скорость поступления субстратов [14]. ЦТК—сложная многокомпонентная система, имеющая несколько возможных путей ввода окисляемых метаболитов (рис. 1), причем относительная роль каждого из них определяется тканевой специфичностью и может изменяться с возрастом животного, при различных функциональных состояниях и др.



Рис. 1. Схема реакций ЦТК и основных путей ввода окисляемых метаболитов: жирными стрелками обозначены этапы преимущественного пути ввода окисляемых метаболитов в ЦТК в головном мозгу

Сейчас можно считать доказанным, что основным предшественником, окисляемым в ЦТК в мозгу взрослых животных, служит пируват, образующийся в ходе гликолиза. Убедительно и наглядно свидетельствует об этом сопоставление данных о скорости утилизации глюкозы и пирувата мозгом. Так, в экспериментах на белых крысах установлено, что скорость утилизации глюкозы составляет 0,65—0,70 мкмоль/мин, а пирувата—1,30—1,40 мкмоль/мин в расчете на 1 г ткани [5, 15, 16]. Для сравнения можно указать, что скорость утилизации пирувата в печени заметно ниже и равна 0,35—0,40 мкмоль/мин/г [17]. Аналогичное заключение об исключительно интенсивном использовании пирувата в качестве предшественника компонента ЦТК можно сделать на основании наших результатов, полученных в экспериментах с 2^{14}C -пируватом. В этих опытах относительная удельная радиоактивность цитрата в мозгу составляла 520, что в 3—4 раза превышает эту величину в печени, сердце или почках тех же экспериментальных животных [18].

При сопоставлении относительной роли двух возможных путей ввода пирувата (рис. 1) в ЦТК выявлена характерная для головного мозга взрослых животных особенность—явное преобладание пируват-дегидрогеназной (ПДГ) реакции над пируваткарбоксилазной [7, 19—21]. Эксперименты с радиоактивными предшественниками, а также математические расчеты скоростей метаболического потока свидетельствуют о том, что в головном мозгу взрослых животных до 80—90% пирувата подвергается окислительному декарбоксилированию под действием ПДГ комплекса с последующим окислением образующегося CoASAc в ЦТК [25—27]. В печени в этой реакции используется не более 15—20% субстрата, но активно функционирует другой механизм ввода пировиноградной кислоты в ЦТК—карбоксилирование ее под действием пируваткарбоксилазы до щавелевоуксусной кислоты [28, 29].

Необходимо подчеркнуть, что в митохондриях головного мозга при самых разнообразных воздействиях, вплоть до экстремальных, сохраняется доминирование ПДГ реакции над остальными путями метаболизма пирувата, несмотря на то, что скорости отдельных реакций обмена этого субстрата могут изменяться [7, 18, 22, 23]. Напротив, в митохондриях печени, сердечной и скелетной мышц, почек и других тканей при изменении функционального состояния, при различных метаболических сдвигах преобладающим может стать любой из основных путей метаболизма пирувата [17, 30—32]. Например, в митохондриях печени в условиях интенсивного глюконеогенеза скорость карбоксилирования пирувата в 5—10 и более раз превышает скорость ПДГ реакции [33, 34].

Важная роль ПДГ комплекса в обеспечении потока окисляемых метаболитов для ЦТК объясняет интерес исследователей к изучению различных аспектов регуляции скорости окислительного декарбоксилирования пирувата. Работы в этом направлении выполнены преимущественно на ферментативных препаратах, изолированных не из мозга, а из других органов. Однако сопоставление кинетических и регуляторных свойств ПДГ комплексов из мозга и других тканей животных указывает на их большое сходство [35—39].

Регуляция активности сложного мультиэнзимного ПДГ комплекса осуществляется несколькими путями. Наиболее детально изучен механизм ковалентной химической модификации фермента, схема которой приведена на рис. 2. В результате АТР-зависимого фосфорилирования с помощью ПДГкиназы образуется неактивный комплекс; дефосфорилирование, катализируемое специфической фосфатазой, приводит к образованию активного ПДГ комплекса [17, 36, 38—40, 41]. Реакция фосфорилирования—дефосфорилирования подвергается лишь один компонент комплекса, а именно—пируватдекарбоксилаза. Фосфорилирование α -полипептидной цепи фермента осуществляется специфической Mg^{2+} -зависимой киназой. Интересно, что в отличие от других протенинказ, катализирующих подобные реакции фосфорилирования фер-

ментативных или иных белков, ПДГкиназа является циклонуклеотид-независимой [42, 43].

Реакция фосфорилирования, то есть инактивация ПДГ комплекса, ускоряется в присутствии высоких концентраций АТР и низких концентраций Mg^{2+} , но тормозится при возрастании уровня АДФ, который конкурирует в реакции с АТР. Фосфатазная реакция (активирование ПДГ комплекса) стимулируется высокими концентрациями Mg^{2+} и низкими— Ca^{2+} . Таким образом, важным фактором в регуляции взаимопревращений активной и неактивной форм ПДГ комплекса является внутримитохондриальное отношение АТР/АДФ [36, 38, 40].

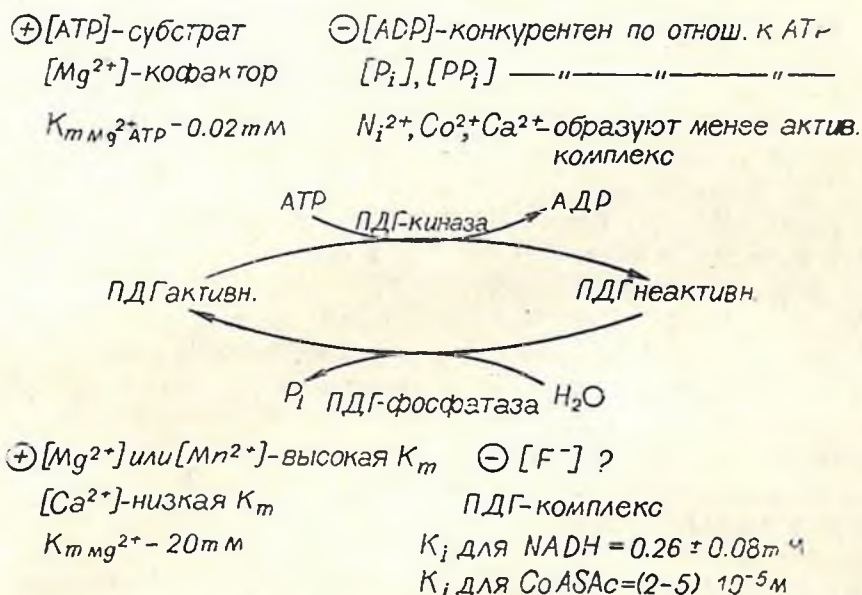


Рис. 2. Основные механизмы регуляции активности ПДГ комплекса в тканях животных [40, 41]

Во многих тканях это отношение зависит от функционального состояния, в частности, от типа преимущественного субстрата окисления. Например, в печени, почках, сердечной мышце при усиленном окислении свободных жирных кислот и кетоновых тел (богатая жирами диета, голодание) резко возрастает уровень ацил-СоА, нарушается транспорт АТР и АДФ через митохондриальные мембраны с помощью адениннуклеотид-транслоказы; это приводит к значительному повышению интрамитохондриального отношения АТР/АДФ. В свою очередь эти сдвиги способствуют образованию неактивной, фосфорилированной формы ПДГ комплекса. Доля ее возрастает в сердце в 5 раз, в печени, почках, жировой ткани—в 2,5—4 раза [17].

Напротив, в головном мозгу таких изменений в соотношении фосфорилированной и дефосфорилированной форм ПДГ при голодании не наблюдается; на долю активной формы фермента в мозгу голодающих крыс, как и в контроле, приходилось около 70% от общей активности

ПДГ комплекса [17, 44]. Это согласуется с тем, что в мозгу взрослых животных роль свободных жирных кислот как энергетических источников ничтожна по сравнению с глюкозой. Интересно отметить, что в экспериментах на изолированных митохондриях мозга, способных к окислению свободных жирных кислот, показано изменение активности ПДГ под влиянием добавленного в инкубационную среду палмитонил- CoA , который, ингибируя транслоказу адениннуклеотидов, вызывал возрастание интрамитохондриального отношения ATP/ADP [45].

Большое значение ПДГ реакции в обеспечении интенсивности энергетического обмена в головном мозгу, а также то обстоятельство, что максимальная активность ПДГ комплекса (1,8 мкмоль/мин/г) лишь немногим выше средней скорости потока пирувата (1,3—1,4 мкмоль/мин/г) [5, 24], наводят на мысль о существовании в мозгу тонкой и эффективной системы регуляции ПДГ комплекса. Экспериментами ряда исследователей установлено, что доля активной (дефосфорилированной) формы ПДГ в головном мозгу значительно выше, чем во многих тканях. В мозгу активная форма ПДГ составляет 65—70% от общей активности фермента в ткани [24, 38, 46]; в сердце—40—60% [17, 36]; в печени, жировой ткани—около 20% [17].

Важность и действенность контроля над активностью ПДГ в головном мозгу за счет изменений энергетической обеспеченности ткани и сдвига в соотношении компонентов адениннуклеотидного пула убедительно показаны в экспериментах *in vivo* [46, 47]. Установлена четкая корреляция между величиной энергетического заряда в мозгу и активностью дефосфорилированной формы ПДГ комплекса в мозгу мышц при ряде воздействий (фенобарбиталовый наркоз, введение животному инсулина и др.).

Большое значение в регуляции скорости взаимопревращения активной и неактивной форм ПДГ придается Ca^{2+} . Величина K_m ПДГ-фосфатазы (около 10^{-3} М) [48], находящаяся в пределах физиологических значений концентрации Ca^{2+} в митохондриях, указывает на возможность участия этого фактора в контроле ПДГ комплекса *in vivo* [12, 17, 49]. Именно с изменением внутримитохондриальной концентрации Ca^{2+} и вызванной этим активацией ПДГ комплекса за счет дефосфорилирования объясняют исследователи хорошо известный факт стимуляции скорости окисления пирувата срезами мозга или препаратами митохондрий мозга при возрастании концентрации K^+ в инкубационной среде [7, 50]. Деполаризация нейрональных мембран при повышении концентрации K^+ в среде может, кроме того, вызывать и падение интрамитохондриального отношения ATP/ADP , что также способствует образованию активной формы ПДГ комплекса.

Кроме величины отношения ATP/ADP в митохондриях, к факторам, контролирующим скорость окислительного декарбоксилирования пирувата, относится уровень продуктов реакции: CoASAc и NADH ; накопление их в митохондриях ведет к торможению ПДГ реакции [31, 35, 36, 40]. Относительная роль этих факторов в регуляции ПДГ реакции в

мозгу неодинакова. Концентрация NADH, а точнее—величина отношения NAD^+/NADH , является весьма лабильной величиной, особенно в митохондриях тканей с высокой интенсивностью окислительно-восстановительных процессов. Поэтому данный фактор участвует в регуляции ПДГ реакции в головном мозгу и других тканях.

Напротив, регуляторная роль другого продукта реакции—CoASAc в головном мозгу меньше, чем в тканях, способных к окислению больших количеств жирных кислот и, следовательно, к значительным изменениям концентрации CoASAc, которая в головном мозгу крыс составляет в среднем $2,0\text{--}2,5 \times 10^{-5}$ М [51, 52] и является у взрослых животных величиной достаточно стабильной и мало изменяется при различных воздействиях. В то же время в печени, сердечной мышце средняя концентрация этого метаболита $4,0\text{--}5,0 \times 10^{-5}$ М [53, 54]; при усилении окисления свободных жирных кислот и кетоновых тел она может возрастать в 5—7 раз, в силу чего резко увеличивается отношение CoASAc/CoA в митохондриях. Повышение доли CoASAc сопровождается угнетением активности ПДГ комплекса [36, 39, 49], поскольку величина K_i фермента составляет $2\text{--}5 \times 10^{-5}$ М [39].

Таким образом, на основании приведенных данных можно сделать заключение о том, что в головном мозгу взрослых животных основным путем ввода окисляемых метаболитов в ЦТК является окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты. Среди факторов множественного контроля над скоростью этого процесса в мозговой ткани основную роль играет изменение отношения ATP/ADP и отношения NAD^+/NADH в митохондриях.

Источниками CoASAc для цитратсинтазной стадии ЦТК могут служить также реакции окисления свободных жирных кислот и кетоновых тел и метаболические превращения ряда аминокислот (рис. 1). Однако оба эти пути пополнения фондов CoASAc, имеющие большое значение для многих тканей, в мозгу взрослого животного играют весьма скромную роль. Например, в опытах с ^{14}C -глюкозой и ^{14}C -пальмитиновой кислотой, проведенных на срезах мозга кролика, установлено, что до CO_2 и H_2O окисляется 385 ± 15 нмоль глюкозы и лишь 0,02—0,04 нмоль жирной кислоты в расчете на 1 г ткани за час [55]. Такая большая разница в скорости утилизации двух энергетических субстратов объясняется низкой активностью ферментов, лимитирующих окисление свободных жирных кислот в мозгу взрослых животных, в первую очередь—ацил-CoA-синтетазы.

Напротив, в головном мозгу растущих животных свободные жирные кислоты, и особенно кетоновые тела, окисляются гораздо интенсивнее, чем у взрослых. Это обусловлено несколькими факторами. Во-первых, более высокой концентрацией кетоновых тел в крови в неонатальный период, когда животное получает в основном молочную пищу. Для крыс-сосунков (возраст до 20 дней) содержание кетоновых тел в крови в 8—15 раз превышает таковое у взрослых. Во-вторых, с возрастом по мере формирования ГЭБ уменьшается скорость поглощения мозгом

кетонových тел из крови. Так, при одинаковой концентрации кетонových тел в крови артерио-венозная разница для мозга 16—20-дневных крыс в 3—4 раза выше, чем у взрослых животных [56].

Наконец, третье важное обстоятельство, обуславливающее более интенсивное использование кетонových тел мозгом растущих животных,—высокая активность ферментов, лимитирующих скорость этого процесса: 3- β -оксibuтиратдегидрогеназы, CoA-трансферазы β -кетокислот и ацетоацетил-CoA-тиолазы [57, 58]. Активность первых двух ферментов обнаруживается в мозгу уже при рождении, быстро повышается, достигая максимума к 20—25-му дню, а затем так же резко снижается. У 20—25-дневных крыс активность этих ферментов в 2—3 раза выше, чем в мозгу взрослых животных. Аналогичный характер носят возрастные изменения активности митохондриальной формы ацетоацетил-CoA-тиолазы, хотя общая активность фермента в нервных клетках наиболее высока у новорожденных животных, а затем постепенно снижается. Ранняя постнатальная индукция «ключевых» ферментов метаболизма кетонových тел контрастирует со значительно более медленным возрастанием активности лимитирующих ферментов гликолиза, ЦТК, а также ПДГ комплекса [22]. Рис. 3 наглядно иллюстрирует эти взаимоотношения.

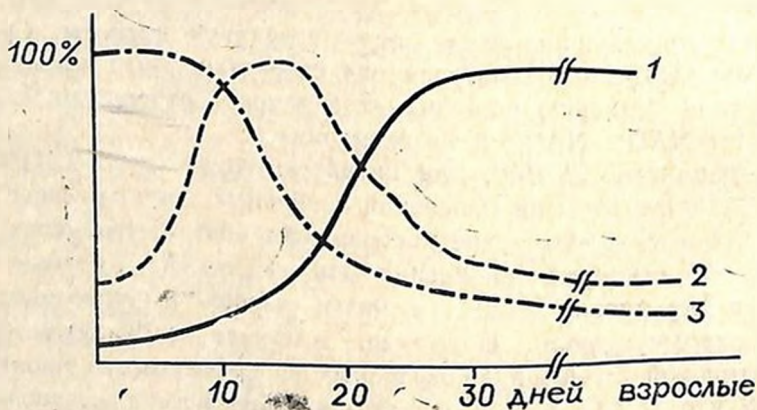


Рис. 3. Возрастные изменения активностей ПДГ комплекса и ацетоацетил-CoA-тиолазы в мозгу крыс [57—59]: 1—активность ПДГ, 2—общая активность ацетоацетил-CoA-тиолазы, 3—активность митохондриальной формы ацетоацетил-CoA-тиолазы

При обсуждении роли отдельных реакций образования CoA, который может быть использован для биосинтеза цитрата, особое внимание привлекает соотношение двух ферментов: митохондриальной ацетоацетил-CoA-тиолазы (катализирует реакцию: $\text{ацетоацетил-CoA} + \text{CoASH} \rightleftharpoons 2 \text{CoASAc}$) и ПДГ. Оба фермента для образования CoA требуют свободного CoASH и конкурируют за этот субстрат, поскольку величины K_m для CoASH у них близки ($8-15 \times 10^{-6}$ М для тиолазы [58, 59] и $4,7 \pm 2,4 \times 10^{-6}$ М для ПДГ [35]). Отношение активностей тиолазы к ПДГ в мозгу 20-дневных

крыс в 3,5—4,0 раза выше, чем у взрослых животных. Благодаря этому у растущих животных ацетилирование свободного CoASH происходит главным образом в ацетоацетил-CoA-тиолазной реакции, а у взрослых животных, напротив, в ходе ПДГ реакции.

Необходимо отметить, что в мозгу растущих животных CoASAc, образующийся в ходе метаболизма кетоновых тел, расходуется не только на окисление в ЦТК, но в значительной мере идет на процессы биосинтеза специфических липидов, аминокислот, белков [56, 60]. Интенсивное окисление кетоновых тел характерно именно для периода миелинизации, роста аксонов, дендритов и образования функциональных синаптических комплексов.

Использование кетоновых тел в качестве источника CoASAc, но уже не для биосинтетических реакций, а для окисления в ЦТК, то есть в качестве энергетических субстратов, возможно и в мозгу взрослых животных при различных экстремальных состояниях. В частности, это имеет место при длительном голодании, когда на фоне истощения углеводных ресурсов организма резко возрастает концентрация кетоновых тел в крови.

При рассмотрении особенностей регуляции ЦТК в головном мозгу прежде всего следует обратить внимание на те его неравновесные стадии, которые протекают с наименьшей скоростью и могут служить точками контроля общей скорости потока метаболитов через цикл. В таблице приведены полученные нами данные о средней величине активностей ферментов ЦТК в головном мозгу и печени крыс. Сопоставле-

Таблица

Активность ферментов ЦТК в митохондриях головного мозга и печени крыс
(нмоль субстрата/мин/мг белка)

Ферменты	Головной мозг	Печень
Цитратсинтаза	8,2±0,3	6,4±0,3
NAD-изоцитратдегидрогеназа	28,3±2,2	5,6±0,4
NADP-изоцитратдегидрогеназа	19,6±1,5	32,0±2,4
α-Кетоглутаратдегидрогеназа	58,9±3,7	64,5±4,9
Сукцинатдегидрогеназа	106,0±15,7	145,2±20,1
NAD-малатдегидрогеназа	470,0±35,5	385,0±40,2

ние величин активностей ферментов ЦТК подтверждает вывод [61] о том, что к наиболее медленным этапам, лимитирующим скорость цикла в целом, в головном мозгу, как и в других тканях, относятся реакции синтеза и окисления цитрата.

Скорость необратимой в физиологических условиях реакции биосинтеза лимонной кислоты находится под контролем нескольких одновременно действующих факторов. В опытах с очищенными ферментативными препаратами найдено, что АТР является отрицательным аллостерическим модулятором цитратсинтазы. Эффект нуклеотида обусловлен повышением K_m фермента для CoASAc [62].

Вопрос о возможности участия АТФ в регуляции активности цитратсинтазы в различных тканях животных *in vivo* окончательно не решен. В литературе имеются сведения о том, что фермент из сердца и печени мало чувствителен к преобладающей в митохондриях форме АТФ—комплексу Mg^{2+} -АТФ [63, 64]. В то же время для ряда тканей—корковый слой почек [65], летательные мышцы насекомых [12]—эффективность АТФ в регуляции скорости синтеза цитрата можно считать установленной.

Субстраты реакции—CoASAc и оксалоацетат также участвуют в регуляции активности цитратсинтазы [12, 64, 66]. На основании сопоставления величин K_m , полученных на очищенных препаратах фермента и реально существующих в тканях животных концентраций этих метаболитов, было сделано заключение, что из этих двух регуляторных факторов основным *in vivo* является концентрация шавелевоуксусной кислоты [67]. Действительно, внутримитохондриальная концентрация оксалоацетата, равная по расчетам $2,0-5,0 \times 10^{-7}$ М [53, 68, 69], значительно ниже K_m цитратсинтазы— $1,6-4,0 \times 10^{-6}$ М [64, 68]. В то же время концентрация CoASAc, составляющая в митохондриях $2,0-5,0 \times 10^{-5}$ М [53], гораздо выше соответствующей константы фермента ($K_m = 1,4-1,6 \times 10^{-7}$ М [62]), и, следовательно, в физиологических условиях накопление этого субстрата в митохондриях не может существенно влиять на скорость биосинтеза цитрата.

Таким образом, *in vivo* скорость цитратсинтазной реакции контролируется двумя факторами: митрамитохондриальными концентрациями шавелевоуксусной кислоты (зависящей в свою очередь от величины отношения $NAD^+/NADH$) и отрицательного аллостерического эффектора фермента—АТФ. Как показали эксперименты с радиоактивными предшественниками и расчеты скоростей метаболических потоков на начальном этапе ЦТК, относительная регуляторная роль этих факторов в различных органах неодинакова.

Нами был проведен корреляционный анализ зависимости между интенсивностью биосинтеза цитрата и содержанием основных контролирующих его факторов (оксалоацетат, адениновые нуклеотиды) в головном мозгу и печени крыс [18]. В этих экспериментах для оценки биосинтеза лимонной кислоты использовали как величины активности цитратсинтазы и содержание лимонной кислоты в тканях, так и результаты опытов по включению в цитрат радиоактивных предшественников ($2\text{-}^{14}\text{C}$ -ацетата, $2\text{-}^{14}\text{C}$ -пирувата и др.). Анализ всего комплекса показателей в норме и при резких нарушениях энергетического обмена, вызванных разобщением окислительного фосфорилирования, гипоксией или высокими дозами тиреоидных гормонов, дал возможность установить, что в головном мозгу во всех случаях проявляется наиболее четкая зависимость (судя по величине коэффициентов корреляции) между интенсивностью биосинтеза цитрата и отношением адениновых нуклеотидов, а в печени—между скоростью цитратсинтазной реакции и уровнем оксалоацетата.

Основным путем метаболизма лимонной кислоты в мозгу является окисление ее в изоцитратдегидрогеназных (ИЦДГ) реакциях после превращения в изолимонную кислоту. В мозгу взрослых животных до 98% цитрата подвергается дальнейшему окислению и лишь около 2% расщепляется в цитратлиазной реакции до CoASAc и оксалоацетата [20]. Максимальная активность цитратлиазы обнаружена в холинэргических синапсах, где образующийся CoASAc используется для биосинтеза ацетилхолина [70, 71].

Роль NAD- и NADP-зависимых ИЦДГ в окислении изолимонной кислоты далеко не одинакова. По нашим данным, а также судя по результатам других исследователей [5, 18, 20], в мозгу основная часть (до 70%) этого субстрата окисляется по NAD-зависимому пути, поставляющему NADH непосредственно в дыхательную цепь и таким образом тесно связанному с поддержанием энергетического баланса клеток. Напротив, в печени, сердце и других тканях с помощью NAD-ИЦДГ окисляется менее 10% изоцитрата клетки, а основная масса субстрата используется в NADP-ИЦДГ реакциях [72], особенно интенсивно протекающих в цитоплазме. Интересно, что преобладание NAD-зависимого пути окисления изоцитрата в митохондриях характерно лишь для мозга взрослых животных. У растущих животных в период интенсивной миелинизации значительная часть изоцитрата окисляется в NADP-ИЦДГ реакции [22, 73] и может служить источником NADPH для биосинтеза специфических липидов мозга.

Регуляция скорости окисления изоцитрата осуществляется главным образом за счет изменения активности NAD-специфичной, а не NADP-зависимой ИЦДГ [63, 74, 75]. Это обусловлено прежде всего значительным различием в величине K_m субстрата для обоих ферментов. Для NADP-ИЦДГ K_m изоцитрата равна $2,0-5,0 \times 10^{-6}$ М [76], а для NAD-зависимого фермента в присутствии ADP— $1,0-3,0 \times 10^{-3}$ М [77]. Сопоставление этих величин и концентрации изоцитрата в митохондриях ($1,0-3,0 \times 10^{-4}$ М) [53, 69] свидетельствует о том, что NAD-ИЦДГ в отличие от NADP-специфичного фермента функционирует в митохондриях в условиях, далеких от насыщения субстратом. Следовательно, повышение уровня изоцитрата (например, при ускорении цитратлиазной реакции) будет сопровождаться увеличением скорости лишь NAD-зависимого окисления субстрата.

В отличие от NADP-ИЦДГ NAD-зависимый фермент относится к числу регуляторных; положительным аллостерическим эффектором его служит ADP, а АТР, напротив, ингибирует его [63, 67]. Эффект ADP обусловлен конформационными изменениями фермента, при которых возрастает его сродство к субстрату. Эффективность адениннуклеотидного контроля NAD-ИЦДГ реакции в определенной мере зависит от интрамитохондриальной концентрации Ca^{2+} , которые снижают величину K_m фермента для изоцитрата [12, 78].

Наряду с адениновыми нуклеотидами в контроле над активностью NAD-ИЦДГ принимают участие и пиримидиновые нуклеотиды: восстановленная форма NAD ингибирует фермент [63, 75].

Как уже упоминалось, роль NAD-зависимой ИЦДГ в окислении изоцитрата особенно велика в головном мозгу. Сопоставив механизмы регуляции NAD-ИЦДГ и цитратсинтазной реакций, можно сделать вывод о существовании специфичной для мозга совместной, сопряженной регуляции скорости двух начальных этапов ЦТК, лимитирующих в то же время и общую скорость потока в ЦТК. Действительно, активность обоих ферментов согласованно и однонаправленно меняется при изменении соотношения компонентов адениннуклеотидного пула. Кроме того, ускорение цитратсинтазной реакции и сопровождающее его накопление изоцитрата в силу упомянутых различий в величинах K_m двух типов ИЦДГ также способствует увеличению активности именно NAD-ИЦДГ.

В то же время в ряде других тканей, например в печени, роль NAD-ИЦДГ в окислении изоцитрата значительно меньше, чем в мозгу. Основным путем окисления этого субстрата служит NADP-ИЦДГ реакция, скорость которой не контролируется ни адениновыми нуклеотидами, ни концентрацией изоцитрата (в пределах концентраций, близких к физиологическим). Следовательно, в этих тканях основным регуляторным участком, определяющим интенсивность потока метаболитов через ЦТК, является цитратсинтазная реакция.

Сопоставляя механизмы контроля скоростей рассмотренных реакций, можно сделать вывод о том, что сопряженная регуляция начальных, лимитирующих этапов ЦТК и зависимость их скорости от соотношения компонентов адениннуклеотидной системы обуславливает существование в головном мозгу более тесной, чем в других тканях, зависимости между интенсивностью энергетического обмена и скоростью потока в ЦТК. Эта характерная для мозга особенность позволяет объединить цитратсинтазу и NAD-зависимую ИЦДГ в единый функциональный ансамбль, подобно тому, как объединены в аналогичный ансамбль два важнейших фермента, лимитирующих скорость гликолиза в головном мозгу,—гексокиназа и фосфофруктокиназа [79, 80]. Вполне логично включить в такой функциональный ансамбль и ПДГ комплекс, поскольку в головном мозгу именно он определяет интенсивность ввода окисляемых метаболитов в ЦТК, а основным фактором контроля (как и в случае цитратсинтазы и NAD-ИЦДГ) служит интрамитохондриальное отношение ATP/ADP.

TRICARBOXYLIC ACID CYCLE AND ITS REGULATION IN BRAIN

ESCHENKO N. D.

Institute of Physiology, State University, Leningrad

The basic mechanisms involved in the regulation of tricarboxylic acid cycle are discussed using literature and personal experimental data. Special attention is called to the mechanisms controlling pyruvate dehydrogenase, citrate synthetase and isocitrate dehydrogenase catalyzed reactions. The predominant pathways controlling tricarboxylic acid cycle in brain and other tissues are compared.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Balázs R.—In: Handbook of Neurochemistry (ed. A. Lajtha), 3, 1—36, Plenum Press, N. Y., 1970.
2. McIlwain H.—In: Essays in Biochemistry (eds. P. N. Campbell, F. Dickens), 7, 127—153, Acad. Press, N. Y., London, 1971.
3. Duffy T. E., Howse D. C., Plum F. J. Neurochem., 24, 925—934, 1975.
4. Sokoloff L. J. Neurochem., 29, 13—26, 1977.
5. Siesjö B. K. Brain energy metabolism, 607 p., J. Willey and Sons, N. Y., 1978.
6. Balázs R., Cremer J. E. Metabolic compartmentation in the brain, 375 p., Mac-Millan, N. Y., 1973.
7. Hertz L., Schousboe A. Internat. Rev. Neurobiol. (eds. C. C. Pfeiffer, J. R. Smythies), 18, 141—211, Acad. Press, N. Y., London, 1975.
8. Berl S., Clarke D. D., Schneider D. Metabolic compartmentation and neurotransmission: Relation to structure and function in brain, 542 p., Plenum Press N. Y., 1975.
9. Atkinson D. E. Adv. Enzym. Regul., 13, 393—411, 1975.
10. Kohn M., Achs M. J., Garfinkel D. Amer. J. Physiol., 237, 3, R 153-R 158, 1979.
11. Дынник В. В., Темнов А. В. Биохимия, 42, 1030—1044, 1977.
12. Williamson J. R., Cooper R. H. FEBS Lett., 117, K 73—K 85, 1980.
13. Лабору Г. Метаболические и фармакологические основы нейрофизиологии. М., Мир, 168 с., 1974.
14. Kacser H., Burns J. A.—In: Rate control of biological processes. Sympos. of the Soc. Exper. Biol. (ed. D. D. Davies), 27, 65—104, Cambridge University Press, 1973.
15. Nahorski S. R., Rogers K. J. J. Neurochem., 21, 679—686, 1973.
16. Norberg K., Siesjö B. K., J. Neurochem., 22, 1127—1129.
17. Wieland O. H., Sless E. A., Weiss L., Löffler G., Patzell C., Portenhauser R., Hardtmann U., Schlrman S. Regulation of the mammalian pyruvate dehydrogenase complex by covalent modification. Sympos. of the Soc. Exper. Biol. (ed. D. D. Davies), 27, 371—400, Cambridge Univers. Press. 1973.
18. Ещенко Н. Д., Прохорова М. И. Вопросы биохимии мозга, 12, 78—88, Ереван. Изд-во АН АрмССР, 1976.
19. Cheng S.-C.—In: Handbook of Neurochemistry (ed. A. Lajtha), 5, 283—315, Plenum Press, N. Y., 1971.
20. Patel M. J. Neurochem., 22, 717—724, 1974.
21. Cheng S.-C. Int. Rev. Neurobiol., 14, 125—157, 1971.
22. Wilbur D. O., Patel M. S. J. Neurochem., 22, 709—715, 1974.
23. Ещенко Н. Д., Путилина Ф. Е., Вилкова В. А.—В сб.: Митохондрии, М., 27—32, 1977.
24. Cremer J. E., Teal H. M. FEBS Lett. 39, 17—20, 1974.
25. Patel M. S., Tilghman S. M. Biochem. J., 132, 185—192, 1975.
26. Mahan D. E., Mushahwar I. K., Koeppel R. E. Biochem. J., 145, 25—35, 1975.
27. Larrabee M. G. J. Neurochem., 33, 123—131, 1979.
28. Mermier P., Favarger P., Leurat B. Biochem. J., 10, 3448—3453, 1979.
29. Von Glutz G., Walter P. FEBS Lett., 72, 299—308, 1976.
30. Hiltunen J. K., Hassanen G. E. Biochim. Biophys. Acta, 440, 377—390, 1977.
31. Randle P. J. Trends. Biochem. Sci., 3, 10, 217—219, 1978.
32. Knowles S. E., Ballard F. Biol. Neonat., 24, 1—2, 41—46, 1974.
33. Williamson J. R., Scholz R., Browning E. T. J. Biol. Chem. 244, 4617—4627, 1960.
34. Newscholme E. A., Start C. Regulation in metabolism. J. Willey and Sons, L., 382 p., 1973.
35. Blass J. P., Lewis C. A. Biochem. J., 131, 31—37, 1973.
36. Portenhauser R., Wieland O. H. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 358, 647—658, 1977.

37. *Perham R. N., Hale G., Danson M. J.* Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem., 359, 1133—1134, 1978.
38. *Booth R. F. G., Clark J. B. J.* Neurochem., 30, 1003—1008, 1978.
39. *Ngo T. T., Barbeau A. J.* Neurochem., 31, 69—75, 1978.
40. *Denton R. M., Randle P. J., Bridges B. J.* Mol. Cell Biochem., 9, 27—43, 1975.
41. *Stansbie D.* Clin. Sci. Mol. Med., 51, 445—452, 1976.
42. *Barrera C. R., Namihira G., Hamilton L., Munk P., Eley M. H., Linn T. C., Reed L. J.* Arch. Biochem. Biophys., 148, 343—358, 1972.
43. *Henriksson T., Jergil B.* Biochim. Biophys. Acta, 588, 380—391, 1979.
44. *Kerbey A., Randle P. J., Cooper R. H., Whitenhouse S., Pask H. T., Denton R. M.* Biochem. J., 154, 327—334, 1976.
45. *Shrago E., Ball M., Sul-Hei Sock, Baquer M. Z., McLean P.* Eur. J. Biochem., 75, 83—89, 1977.
46. *Jope R., Blass J. R.* Biochem. J., 150, 397—405, 1975.
47. *Jope R., Blass J. R.* J. Neurochem., 26, 709—714, 1976.
48. *Siess E. A., Wieland O. H.* Eur. J. Biochem., 26, 96—105, 1972.
49. *Hansford R. G., Cohen L.* Arch. Biochem. Biophys., 191, 65—81, 1978.
50. *Kovachich G. B., Haugaard N. J.* Neurochem., 28, 923—927, 1977.
51. *Reynolds S. F., Blass J. P.* J. Neurochem., 24, 185—186, 1975.
52. *Kato T.* J. Neurochem., 31, 1545—1547, 1978.
53. *Gumaa K. A., McLean P., Greenbaum A. L.* Essays in Biochem., 7, 39—86, 1971.
54. *Shea P. A., Aprison M. H.* J. Neurochem., 28, 51—58, 1977.
55. *Carey E. M.* J. Neurochem., 24, 237—244, 1975.
56. *De Vivo D. C., Leckle M. P., Agrawal H. C.* J. Neurochem., 25, 161—170, 1975.
57. *Williamson D. H.* Sympos. of the Soc. Exper. Biol. (ed. D. D. Davies), 27, 283—298, Cambridge Univers. Press, 1973.
58. *Middleton B.* Biochem. J., 132, 731—747, 1973.
59. *Patel T. B., Booth R. F. G., Clark J. B. J.* Neurochem., 29, 1151—1153, 1977.
60. *Patel M. S., Owen O. E.* J. Neurochem., 28, 1, 109—114, 1977.
61. *Krebs H. A., Lowenstein J. M.*—In: Metabolic pathways (ed. D. M. Greenberg), 2nd. ed., 1, 129—203, Acad. Press, N. Y., 1960.
62. *Garland P. B., Shepherd D., Nicholls D. G., Yates D. W., Light P. A.*—In: Citric acid cycle: Control and compartmentation (ed. J. N. Lowenstein), Acad. Press, N. Y., 163—212, 1969.
63. *Williamson J. R., La Noue K. F.* PAABS Revista, 4, 1—2, 53—62, 1975.
64. *Weitzman P. D. J., Danson M. J.*—In: Current topics in cellular regulation (eds B. L. Horecker, E. R. Stadtman), Acad. Press, N. Y., 10, 161—204, 1976.
65. *Brown J. N., Payne B. L., Smith T. M., Sulya L. L.* Intern. J. Biochem., 8, 6, 437—440, 1977.
66. *Srere P. A.*—In: Current topics in cellular regulation (eds B. L. Horecker, E. R. Stadtman), Acad. Press, N. Y., 5, 229—283, 1972.
67. *Krebs H. A.* Adv. Enz. Regul., 8, 335—353, 1970.
68. *Ackrell B. A. C.*—In: Horizons in Biochemistry and Biophysics (ed. E. Quagliariello), Addison-Wesley Publish. Comp., L., Amsterdam, 1, 175—215, 1974.
69. *Голубев А. Г., Ещенко Н. Д.* Вестн. ЛГУ, 15, сер. биол., 66—74, 1977.
70. *Szutowicz A., Lysiak W., Angelski S. J.* Neurochem., 29, 2, 375—378, 1977.
71. *Sterling G. H., O'Neill J. J.* J. Neurochem., 31, 2, 525—530, 1978.
72. *Smith C. M., Plaut G. W. E.* Eur. J. Biochem., 97, 283—295, 1979.
73. *Пугилина Ф. Е., Ещенко Н. Д., Яковлева С. Д., Вилкова В. А.*—В сб.: Митохондрии, М., Наука, с 159—164, 1976.
74. *Lai J. C. K., Clark J. B.* Biochem. Soc. Trans., 6, 993—995, 1978.
75. *Krebs H. A., Johnson W. A.* FEBS Lett., 117, Suppl., 2—10, 1980.
76. *Pegoraro B., Lee Chi-Yu.* Mol. Cell. Biochem., 24, 3—8, 1979.
77. *Plaut G. W. E., Aogalchi T. J.* Biol. Chem., 243, 5572—5583, 1968.

78. *Denton R. M., Richards D. A., Chin J. G.* Biochem. J., 176, 899—906, 1978.
79. *Lowry O. H., Passonneau J. V., Hasselberger F. X., Schulz D. W.* J. Biol. Chem., 239, 18—30, 1964.
80. *Passonneau J. V., Lowry O. H.* Adv. Enz. Regul. (ed. G. Weber), Acad. Press, N. Y., 2, 265—281, 1964.

Ленинградский государственный
университет, Физиологический институт
им. А. А. Ухтомского

Поступила 14. X 1981