



УДК 616—008.9:547.963.3

ОБМЕН УРИДИЛОВЫХ И ЦИТИДИЛОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ
В ГОЛОВНОМ МОЗГУ

НАГИЕВ Э. Р.

Одесский медицинский институт им. Н. И. Пирогова

Нуклеозидтрифосфаты составляют до 80% общего содержания нуклеотидов в тканях у млекопитающих [1, 2]. Пиримидиновые трифосфаты—УТР и СТР, наряду с другими нуклеозидтрифосфатами, используются для синтеза нуклеиновых кислот; кроме того, участвуют в биосинтезе гликогена, фосфолипидов, во взаимопревращениях различных сахаров [3, 2].

Однако, несмотря на это, содержание и обмен указанных соединений в различных органах, в том числе в мозгу, недостаточно исследованы не только при различных патологических состояниях, но и в норме. В частности, в литературе отсутствуют сведения об активности ферментов синтеза и катаболизма пиримидиновых нуклеозидполифосфатов.

В связи с этим, целью настоящей работы являлось комплексное изучение содержания уридилowych и цитидилowych нуклеотидов с одновременным исследованием активности ферментов, катализирующих синтез (нуклеозидмонофосфаткиназа, КФ 2.7.4.4 и нуклеозиддифосфаткиназа, КФ 2.7.4.6) и катаболизм (нуклеозиддифосфатаза, КФ 3.6.1.6 и нуклеозидтрифосфатаза, КФ 3.6.1.15) указанных нуклеотидов в тканях головного мозга интактных крыс.

Исследования проводили на белых крысах-самцах линии *Wistar*, массой 180—200 г. Животных быстро декапировали. Головной мозг при определении содержания нуклеотидов замораживали в жидком азоте. Нуклеотиды исследовали методом анионообменной хроматографии [4]. Количество уридилowych и цитидилowych нуклеотидов при выходе их отдельных форм с другими нуклеотидами определяли по сравнительному соотношению их экстинкций при 260 и 280 нм. Количество нуклеотидов выражали в нмоль/г ткани.

Митохондрии выделяли из гомогенатов головного мозга методом дифференцированного центрифугирования [5]. Нуклеозидмонофосфаткиназную и нуклеозиддифосфаткиназную активности определяли по приросту [^{14}C]UDP из [^{14}C]UMP и [^{14}C]UTP из [^{14}C]UDP соответственно (нмоль/мг белка/60 мин) [6]. Нуклеотиды в этом случае определяли с помощью ТСХ на ДЭАЭ-ц [7]. Радиоактивность проб считали на жидкостном сцинтилляционном счетчике СБС-2.

Нуклеозиддифосфатазную и нуклеозидтрифосфатазную активности исследовали с использованием в качестве субстратов для ферментативных реакций UDP, CDP, UTP, CTP и оценивали по приросту Р_i (мкмоль/мг белка/60 мин) [8]. Белок в пробах определяли микробиуретовым методом [9]. Результаты исследований обработаны статистически с использованием общепринятых методов вариационной статистики.

Таблица 1

Содержание уридилowych и цитидилowych нуклеотидов
в головном мозгу крыс (n=8)

Нуклеотиды	Содержание (мкмоль/г ткани)
UTP	0,053±0,007
UDP	0,072±0,005
UMP	0,024±0,002
CDP	0,022±0,002
CMP	0,059±0,005

Примечание. Здесь и в табл. 2 n—количество опытов.

Как показали проведенные исследования, в ткани головного мозга довольно активно протекают процессы обмена уридилowych и цитидилowych нуклеотидов. Данные по содержанию указанных нуклеозидфосфатов в головном мозгу интактных животных представлены в табл. 1. Обращает на себя внимание, что количество уридилowych нуклеотидов, среди которых прежде всего представлен UDP, существенно превышает содержание цитидилowych. Так, например, количество CDP составляет всего лишь 30% от уровня UDP. Содержание UTP в ткани головного мозга равно $0,063 \pm 0,007$ мкмоль, в то время как уровень CTP ниже чувствительности данного метода исследования и практически не обнаруживается. Интересно отметить, что в отношении содержания пиримидиновых нуклеозидмонофосфатов наблюдается противоположная тенденция. Так, количество UMP значительно ниже содержания CMP и составляет примерно 35% от уровня последнего.

В связи с изложенным, большой интерес вызывает исследование активности ферментов, катализирующих синтез и катаболизм непосредственно нуклеозидфосфатов. Проведенные исследования показали, что активность нуклеозидмонофосфаткиназы в головном мозгу интактных крыс составила $7,120 \pm 0,103$ пмоль, а нуклеозиддифосфаткиназная активность $2,054 \pm 0,083$ пмоль (митохондрии) и $6,550 \pm 0,212$ пмоль (постмитохондриальный супернатант).

Таким образом, в исследованных фракциях головного мозга интактных крыс обнаружена довольно высокая активность ферментов, катализирующих конечные этапы биосинтеза пиримидиновых нуклеотидов.

Как известно, динамическое равновесие нуклеотидного фонда обеспечивается равномерным функционированием как анаболических, так и катаболических реакций. Из табл. 2 видно, что в ткани головного мозга интенсивно осуществляются процессы ферментативного расщепления уридилowych и цитидилowych нуклеотидов. В митохондриях головного мозга

UDПазная активность составляет $0,483 \pm 0,033$ мкмоль, а в супернатанте она почти в два раза ниже. Подобная закономерность наблюдается и в отношении CDPазной активности исследуемых фракций. В частности, в супернатанте она составляет $0,249 \pm 0,018$ мкмоль, а в митохондриях более чем в 1,5 раза выше. Таким образом, процессы ферментативного расщепления пиримидиновых нуклеозиддифосфатов более интенсивно протекают в митохондриальной фракции ткани головного мозга. Следует отметить, что если гидролитическая активность в клеточных фракциях головного мозга по отношению к UDP и CDP примерно одинакова, то в отношении нуклеозидтрифосфатазы, катализирующей дефосфорилирование UTP и CTP, имеются существенные различия. Например, UTPазная активность в исследуемых фракциях заметно выше CTPазной, которая составляет по отношению к первой примерно 84% (митохондрии) и 79% (супернатант). Следует отметить, что активность нуклео-

Таблица 2

Активность нуклеозиддифосфатазы и нуклеозидтрифосфатазы, дефосфорилирующих UDP, CDP, UTP и CTP в головном мозгу крыс (мкмоль P/мг белка/60 мин) (n=12)

Нуклеозидфосфатазы	Митохондрии	Постмитохондриальный супернатант
UDПаз	$0,483 \pm 0,033$	$0,256 \pm 0,015$
CDПаз	$0,448 \pm 0,027$	$0,249 \pm 0,018$
UTПаз	$0,922 \pm 0,072$	$0,571 \pm 0,049$
CTПаз	$0,774 \pm 0,053$	$0,455 \pm 0,029$

зиддифосфатаз и нуклеозидтрифосфатаз наиболее выражена в митохондриальной фракции. Кроме того, процессы ферментативного расщепления уридинловых нуклеотидов протекают более интенсивно по сравнению с цитидиловыми.

При анализе полученных данных обращает на себя внимание также относительно высокое содержание цитидиловых нуклеотидов в головном мозгу по сравнению с другими органами. В ткани головного мозга сумма цитидиловых нуклеотидов составляет около 57% от суммарного содержания уридинловых, в то же время в печени и легких она составляет в среднем 25—30% [10, 11]. По всей видимости, сравнительно высокое содержание цитидиловых нуклеотидов в головном мозгу свидетельствует об их важной роли для биосинтеза фосфолипидов, составляющих более 60% всех липидов мозга [12], а сравнительно низкий уровень уридинловых нуклеотидов по сравнению с другими органами, вероятно, обусловлен меньшей интенсивностью анаболических реакций обмена углеводов, в которых участвуют уридинловые коферменты, в частности синтеза и депонирования гликогена [13].

Проведенные исследования позволяют заключить, что в ткани головного мозга нитактных животных довольно активно протекают процессы метаболизма уридинловых и цитидиловых нуклеозидфосфатов. Учитывая важнейшую роль указанных нуклеотидов в различных функциях

организма—от энергообеспечения до построения молекул нуклеиновых кислот—весьма существенное значение приобретает изучение данных процессов обмена при различных патологических состояниях организма, сопровождающихся нарушениями деятельности ЦНС.

METABOLISM OF URIDINE AND CYTIDINE NUCLEOTIDES IN THE INTACT ANIMALS BRAIN

NAGIEV E. R.

N. I. Pirogov Odessa Medical Institute

The content of uridine and cytidine nucleotides and the activity of the main enzymes catalysing their biosynthesis (nucleoside monophosphate kinase, EC 2.7.4.4, and nucleoside diphosphate kinase, EC 2.7.4.6.) and catabolism (nucleoside diphosphatase, EC 3.6.1.6, and nucleoside triphosphatase, EC 3.6.1.15) have been studied in the intact animals brain tissue. It has been established that the metabolism of uridine and cytidine nucleotides proceeded there enough actively. The amount of uridine nucleotide phosphate considerably exceeds the level of cytidine derivatives. Activity of the enzymes splitting of pyrimidine nucleoside di- and triphosphates was higher in mitochondria than in postmitochondrial supernatant. Enzymatic dephosphorylation of uridine nucleotides in brain cellular fractions proceed more intensively than that of cytidine nucleotides.

ЛИТЕРАТУРА

1. Edel S., Rein-Lottrup H. Bull. Soc. chim. biol., v. 48, № 8—9, p. 9115—9133, 1966.
2. Мейлер А. Биохимия. Химические реакции в живой клетке. т. 3. М., Мир, 1982.
3. Pechan J., Halcak L., Liska B. Bratisl. lek. listy., v. 74, № 1, p. 30—36, 1980.
4. Нагиев Э. Р., Савицкий Н. В. Нейрохимия, т. 3, № 2, с. 172—177, 1984.
5. Hogeboom G. H., Schneider W. C., Pallade G. E. J. Biol. Chem., v. 172, № 2, p. 619—635, 1948.
6. Савицкий Н. В., Нагиев Э. Р. Радиобиология, т. 23, № 2, с. 237—240, 1983.
7. Третьяков А. В., Мухомов А. Г. Вопр. онкологии, т. 22, № 7, с. 65—67, 1976.
8. Скулачев В. П. Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи, М., Изд. АН СССР, 1962.
9. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии, М., Высшая школа, 1971.
10. Bazzizolli B., Pasquinelli V., Moruzzi M. Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim., v. 44, № 3, p. 197—203, 1968.
11. Цеселева Н. А. Укр. биохим. журн., т. 44, № 4, с. 531—535, 1972.
12. Хорет А. Молекулярные основы патогенеза болезней, М., Медицина, 1982.
13. Payne R. C., Traut T. W. Anal. Biochem., v. 121, № 1, p. 49—54, 1982.

Поступила 13. XII 1987