

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФОСФОЛИПИДОВ НА АКТИВНОСТЬ ПУРИННУКЛЕОЗИДФОСФОРИЛАЗЫ ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА

З.С. Мкртчян, М.Г. Газарянц, Г.О. Меликсетян, Ж.И. Акопян

*/Институт молекулярной биологии НАН РА/
375014 Ереван, ул. Асратяна, 7*

Ключевые слова: пурииннуклеозидфосфорилаза, фосфолипиды, плацента

Пурииннуклеозидфосфорилаза (ПНФ) играет ведущую роль в усвоении нуклеозидов и нуклеотидов. Фермент катализирует реакцию фосфорилиза пуриновых (дезоксир)рибонуклеозидов с образованием Rib-1-P и соответствующего основания в присутствии фосфата.

Интерес к изучению ПНФ обусловлен рядом факторов, но важнейшим является врожденная недостаточность Т-клеточного иммунитета, что является следствием дефектности ПНФ [5,6]. Определение активности этого фермента в плаценте и амниотической жидкости может иметь важное прогностическое значение.

Важным вопросом является также поиск регуляторов активности ПНФ, в особенности таких, которые не имеют субстратной природы. Как известно, ряд аналогов субстратов ПНФ являются ингибиторами фермента [4,7,8]. Эти соединения можно использовать при некоторых клинических показаниях для подавления Т-клеточного иммунитета. Актуальность вопроса обусловлена тем, что до сих пор не обнаружены активаторы ПНФ.

Материал и методы

Исследована плацента 11 рожениц с физиологическим течением беременности и 25 женщин с неосложненной, но прерванной беременностью или с преждевременными родами на различных сроках. Плацента отмывалась охлажденным 0.02% раствором Версена, удалялись кровеносные сосуды. Затем она гомогенизировалась в 0.05М трис-НСl буфере рН 7.6, содержащем 0.005М ДТТ и 0.1М NaCl. Экстракты центрифугировали 20 мин при 20000 об/мин. Полученные гомогенаты использовали для определения активности ПНФ.

Активность фермента определяли по приросту гуанина, количество которого оценивали по цветной реакции с реактивом Фолина [2].

Реакционная смесь объемом 0.3 мл содержала 50мМ KH_2PO_4 -NaOH, 1.5мМ гуанозина, 5-10 мкл ферментного материала. Время инкубации - 6 мин при 37°C. Реакцию останавливали 2.4 мл 2% Na_2CO_3 , в 0.1н NaOH, затем добавляли 0.24 мл р-ра Фолина и через час измеряли интенсивность окраски при 750 нм. За единицу активности принимали количество фермента, катализирующего образование 1 мкмоль продукта в мин/г ткани.

Результаты и обсуждение

Активность ПНФ определяли в абортивной плаценте и у рожениц с недоношенной и срочной беременностью. Результаты исследования показали, что наиболее высокая активность фермента обнаруживается в плаценте третьего триместра беременности. По сравнению с более ранними сроками активность ПНФ возрастает почти в 1.7 раза, что, по-видимому, связано с более интенсивным протеканием метаболических процессов, обусловленных ростом и развитием плода, а также окончательным формированием функции клеточных белков.

Исследование влияния фосфолипидов на активность ПНФ позволило выявить два активатора. Кардиолипин повышал ферментативную активность на 60%, а фосфатидная кислота — на 40%, причем активирующий эффект достигался при заметно малых концентрациях фосфолипидов (1–8 мМ). Небольшое активирование фермента отмечалось и в присутствии фосфатидилсерина (около 8%). Поскольку исследования проводились на неочищенном препарате фермента, то можно допустить, что эффект активации был бы значительно выше, как в случае креатинкиназы миокарда человека (80–160%) [1].

Механизм активирующего действия названных соединений пока не ясен. ПНФ имеет субъединичное строение. В плаценте человека она представлена тремя молекулярными формами, состоит из трех субъединиц [3] и может находиться в трехмерной и гексомерной формах. Связан ли активирующий эффект действия фосфолипидов в качестве диссоциирующего фактора (как в случае креатинкиназы) или имеет место другой механизм действия, предстоит выяснить в дальнейшем.

Поступила 15.11.99

ՄԱՐԿՈՒ ԸՆԿԵՐՔԱՅԻՆ ՊՈՒՐԻՆՆՈՒԿԼԵՈՉԻԳՏՈՍՅՈՐԻԼԱԶԻ ՎՐԱ ՖՈՍՓՈԼԻԲՈՒԳԻԴՆԵՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Զ.Ս.Մկրտչյան, Մ.Գ.Գասարյանց, Գ.Ն.Մելիքսեթյան, Ժ.Ի.Հակոբյան

Ընկերային պորինուկլեոզիդֆոսֆորիլազի ակտիվության ուսումնասիրությունը հղիության տարբեր փուլերում ցույց տվեց, որ ֆերմենտի առավել ակտիվությունը հայտնաբերվում է հղիության երրորդ եռամսյակում:

Ֆոսֆոլիպիդների ազդեցության ուսումնասիրությունը ընկերային ֆերմենտի ակտիվության վրա ցույց տվեց, որ կարդիոլիպիդը ակտիվացնում է ֆերմենտը 60, իսկ ֆոսֆատիդային թթուն՝ 40%-ով:

Ակտիվացնող ազդեցության մեխանիզմը ուսումնասիրվում է:

THE INVESTIGATION OF PHOSPHOLIPIDS EFFECT ON ACTIVITY OF HUMAN PLACENTA PURINNUCLEOSIDPHOSPHORILASE

Z.S.Mkrtchyan, M.G.Gasaryants, G.O.Meliksetyan, J.I.Hakopyan

The investigation of placental purinenucleosidphosphorilase activity at various stages of pregnancy showed, that the enzyme activity was increased at the end of pregnancy.

The activating effect of cardiolipin and phosphatidic acid on the enzyme activity has been demonstrated.

ЛИТЕРАТУРА

1. Меликсетян Г.О., Мкртчян З.С., Акопян Ж.И., Карагезян К.Г. *Вопр.мед.химии.*, 1991, 5, с.68.
2. Ahmad S.G., Pritchard R.H. *Mol.and Gen.Genet.*, 1969, 107, p.351.
3. Changas G., Reem G.H. *J.Biol.Chem.*, 1979, 254, 10, p.4233.
4. Gilbertsen R.B., Dong M.K. *Ann.N.Y.Acad.Sci.*, 1985, 451, p.313.
5. Hirshorn R. *Clin.Immunol.Immunopathol.*, 1986, 40, p.157.
6. Martin D.W., Gelfand E.W. *Ann.Rev.Biochem.*, 1981, 50, p.845.
7. Nakamura C.E., Chu S.H., Stoeckler J.D. *et al. Biochem.Pharmac.*, 1986, 35, 2, p.133.
8. Nishida J., Kamatani N. *et al. Agents and Actions*, 1979, 9, 5-6, p.549.