

Л. А. Дубицкий, И. В. Шостаковская

ИЗМЕНЕНИЕ СООТНОШЕНИЯ ДВУХ ПУТЕЙ СИНТЕЗА
ПИРИМИДИНОВЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ РНК
В ОТДЕЛЬНЫХ ОРГАНАХ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА
ПОД ВЛИЯНИЕМ АЦЕТИЛХОЛИНА

Известно, что синтез пиримидиновых нуклеотидов осуществляется в клетках животных как из нециклических соединений, с образованием промежуточного метаболита — оротовой кислоты (путь *de novo*), так и за счет реутилизации продуктов распада нуклеиновых кислот (уридина и др.). Соотношение этих путей синтеза нуклеотидов различно в разных органах и изменяется при регенерации и пролиферации тканей [1, 6, 9]. В то же время нервные механизмы регуляции этих процессов изучены недостаточно.

Учитывая существенную роль холинергических механизмов в регуляции секреции пищеварительных желез, а также имеющиеся в литературе указания об активации обмена нуклеиновых кислот на высоте секреции [3, 7, 8, 12, 22], мы поставили задачу определить вклад каждого из путей в синтез пиримидиновых нуклеотидов РНК отдельных пищеварительных желез животных до и после введения им ацетилхолина.

Методика исследований

Эксперименты проводили на белых крысах массой 170—220 г, годовалых перед опытом в течение 18—20 ч. Ацетилхолин гидрохлорид вводили внутривбрюшинно совместно с прозергином за 1; 2 и 3 ч до декантации. Доза ацетилхолина составляла 100 мкг, а прозерина — 5 мкг/100 г. $[2-^{14}\text{C}]$ -оротовую кислоту (Институт изотопов АН ВНР; 31,4 мКи/ммоль) и $[2-^{14}\text{C}]$ -уридин (Всесоюзное объединение «Изотоп», СССР; 55,2 мКи/ммоль) вводили внутривбрюшинно в эквивалентных количествах по 0,5 мкмоль/100 г за 1 ч до декантации. Удельная радиоактивность вводимых препаратов после соответствующих разведений составляла $4,36 \times 10^7$ имп/мин на 1 мкмоль.

После декаптации животных печень, поджелудочную железу и желудок извлекали, замораживали и, отделив предварительно слизистую оболочку желудка от мышечного слоя, немедленно подавали последующей обработке. Навески тканей гомогенизировали в 0,5 н. HClO_4 , центрифугировали при 2000 g 15 мин. Осадок последовательно промывали в 0,2 и 0,1 н. HClO_4 . Первые две надосадочные фракции объединяли и обозначали как кислоторастворимую фракцию (КРФ). Все перечисленные операции проводили на холоде. Осадок делипидизировали и использовали для выделения нуклеотидов РНК методом щелочного гидролиза [11].

Радиоактивность препаратов определяли на газопротоочном счетчике «Протока». Полученные результаты обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение

В данной работе интенсивность новообразования и реутилизационного пути синтеза пиримидиновых нуклеотидов мы оценивали по скорости включения радиоактивно меченых ключевых метаболитов этих путей — [2-¹⁴С]-оротовой кислоты и [2-¹⁴С] уридина, в нуклеотиды РНК.

Результаты опытов прежде всего свидетельствуют о том, что радиоактивная метка оротовой кислоты и уридина с различной скоростью включается в суммарную РНК исследуемых тканей (табл. 1). Так, радиоактивность РНК ткани печени после введения меченой оротовой кислоты почти на два порядка выше, чем в двух других исследуемых органах: слизистой оболочке желудка и поджелудочной железе. Радиоактивность РНК слизистой оболочки желудка в 1,3 раза выше, чем

в поджелудочной железе (р
тканей исследуемых органов
желудочная железа, печень,

Поступление радиоактивных и кислоторастворимых

Название органа	Рад
Слизистая оболочка желудка	[2]
Поджелудочная железа	
Печень	3
Слизистая оболочка желудка	
Поджелудочная железа	
Печень	

Примечание. РА — радиоактив

Доля новообразованных
пиримидиновых нуклеотидов

Показатели
Доля новообразования, %
Доля реутилизационного пути, %

Примечание. Долю участия в формировании усредненных данных органов.

Для характеристики сп
ды РНК двумя альтернати
образования (он) и реутил
ле радиоизотопа каждого и
исследуемых тканей согласн

$$\sigma_H = \frac{A_{op}}{A_{op} + A_{or}}$$

где A_{op} и A_{ur} — радиоактивности животного меченой органами

Результаты этих вычислений этой таблицы, в печени преционного пути незначительны литературными данными [1], нии оротата в анаболически распадается в этом органе желудка и поджелудочной ставляет соответственно 36,8

в поджелудочной железе ($p < 0,05$). Поступление метки уридина в РНК тканей исследуемых органов снижается в следующем порядке: поджелудочная железа, печень, слизистая оболочка желудка.

Таблица 1
Поступление радиоактивной метки оротовой кислоты и уридина в РНК и кислоторастворимую фракцию тканей ($M \pm m$; $n=5$)

Название органа	Радиоактивность, имп/мин на 1 г ткани× ×10 ⁻²		РА РНК РА КРФ ×100
	РНК	КРФ	
[2- ¹⁴ C]-оротовая кислота			
Слизистая оболочка желуд- ка	36,0±1,1	178,4±8,1	20,21±0,88
Поджелудочная железа	27,3±3,4	311,8±24,2	8,80±0,93
Печень	3433,7±294,1	20463,6±1360,0	16,84±1,14
[2- ¹⁴ C]-уридин			
Слизистая оболочка желуд- ка	21,0±1,4	84,7±6,9	25,74±2,90
Поджелудочная железа	40,6±3,8	310,0±44,6	13,74±1,37
Печень	23,0±1,8	178,2±24,3	15,80±1,99

Примечание. РА — радиоактивность; КРФ — кислоторастворимая фракция ткани.

Таблица 2
Доля новообразования и реутилизационного пути синтеза пиримидиновых нуклеотидов РНК в исследованных органах

Показатели	Слизистая оболочка желудка	Поджелудочная железа	Печень
Доля новообразования, %	63,11	40,20	99,33
Доля реутилизационного пути, %	36,89	59,80	0,67

Примечание. Долю путей синтеза нуклеотидов рассчитывали на основании усредненных данных по радиоактивности РНК исследуемых органов.

Для характеристики способности тканей синтезировать нуклеотиды РНК двумя альтернативными путями мы рассчитали долю новообразования (σ_n) и реутилизационного пути (σ_r), приравненную к доле радиоизотопа каждого из вводимых меченых соединений в РНК исследуемых тканей согласно приведенным формулам:

$$\sigma_n = \frac{A_{op}}{A_{op} + A_{up}} \times 100, \quad \sigma_r = 100 - \sigma_n,$$

где A_{op} и A_{up} — радиоактивность РНК исследуемых тканей после введения животным меченой оротовой кислоты и уридина.

Результаты этих вычислений представлены в табл. 2. Как видно из этой таблицы, в печени преобладает путь *de novo*, а доля реутилизационного пути незначительна и составляет 0,67 %, что согласуется с литературными данными [1, 6, 9, 15, 21] о преимущественном включении оротата в анаболический путь обмена, основная часть уридина распадается в этом органе до β -аланина и воды. В слизистой оболочке желудка и поджелудочной железе доля реутилизационного пути составляет соответственно 36,89 и 59,80 %, что позволяет предположить

важное значение этого пути в синтезе пиримидиновых предшественников РНК этих органов. Уридин также более интенсивно поступает в РНК из КРФ данных тканей (табл. 1), в первую очередь в РНК поджелудочной железы. Так, в РНК печени количество метки оротовой кислоты и уридина составляет соответственно 16,8 и 15,8 % радиоактивности КРФ. В слизистой оболочке желудка этот показатель составляет 20,2 % после введения оротовой кислоты и 25,7 % после введения уридина, а в поджелудочной железе соответственно — 8,8 и 13,7 %

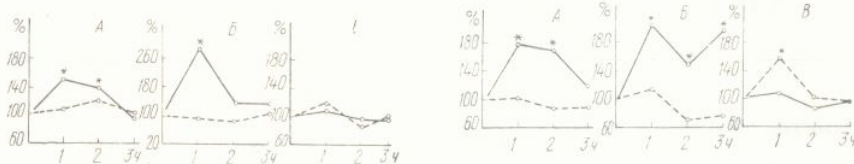


Рис. 1. Поступление меченых предшественников в РНК слизистой оболочки желудка (А), поджелудочной железы (Б) и печени (В) после введения ацетилхолина.

По горизонтали — время после введения ацетилхолина (ч); по вертикали — имп/мин на 1 г ткани (% к контролю принятому за 100). Звездочка — $p < 0,05$. Сплошная линия — $[2-^{14}\text{C}]$ -оротовая кислота, прерывистая — $[2-^{14}\text{C}]$ -уридин.

Рис. 2. Поступление меченых предшественников в КРФ слизистой оболочки желудка (А), поджелудочной железы (Б) и печени (В) после введения ацетилхолина.

Обозначения см. рис. 1.

($p < 0,05$). Указанные различия свидетельствуют, во-первых, о более эффективном использовании уридина для синтеза РНК клетками поджелудочной железы и, по-видимому, слизистой оболочкой желудка, чем клетками печени; во-вторых, — о более эффективном извлечении из КРФ меченых предшественников для синтеза пиримидиновых нуклеотидов РНК в слизистой оболочке желудка, чем в двух других исследуемых тканях. В основе последнего отличия лежит, по-видимому, высокая регенераторная способность слизистой оболочки желудка [18].

Способность эффективно использовать для синтеза пиримидиновых нуклеотидов РНК уридин и другие нуклеотиды выявлена также в нервной, легочной, костной и некоторых других тканях [6, 9, 14, 21], характеризующихся низкой скоростью образования карбамоилфосфата [20], лимитирующего звена синтеза *de novo* пиримидиновых нуклеотидов, что по аналогии можно предположить и для исследуемых тканей.

Ацетилхолин гидрохлорид, введенный животным совместно с прозерином, способствует увеличению поступления метки оротовой кислоты в РНК слизистой оболочки желудка и поджелудочной железы (рис. 1). Так, радиоактивность РНК этих тканей увеличивается уже через 1 ч после введения ацетилхолина соответственно на 50 ($p < 0,01$) и 78 % ($p < 0,001$) по отношению к контролю. Это сопровождается одновременным повышением радиоактивности КРФ, превышающей в слизистой оболочке желудка на 78 ($p < 0,001$), а в поджелудочной железе — на 105 % ($p < 0,001$) контрольный уровень (рис. 2). Такой же эффект наблюдается в слизистой оболочке желудка и через 2 ч после введения ацетилхолина. В то же время в поджелудочной железе скорость поступления оротата в РНК замедляется, хотя радиоактивность КРФ этой ткани значительно превышает контрольный уровень ($p < 0,01$). В печени скорость поступления метки оротовой кислоты в РНК и КРФ под влиянием ацетилхолина изменяется незначительно.

Поступление радиоактивной метки уридина под влиянием ацетилхолина в исследуемые ткани значительно отличается. Так, включение радиоактивно меченого уридина в РНК этих тканей под влиянием ацетилхолина практически не изменяется. Зато ацетилхолин стимулирует поступление меченого уридина в КРФ печени на 59 % ($p < 0,05$),

не влияя на подобное поступление в поджелудочной железе.

Таким образом, полученной специфике влияния ацетилхолина на синтез РНК уридина и оротовой кислоты эффекты нельзя удовлетворительно объяснить сдвигами в тканях ацетилхолина [5], о чем свидетельствуют данные о поступлении радиоактивных меток в различные ткани. Учитывая данные о влиянии меченого оротата в РНК поджелудочной железы по требованиям клеточного обмена, турными данными о стимуляции пиримидиновых нуклеотидов в данном сердце лягушки [10] для полученные нами и литературы фосфорилирование пиримидиновых нуклеотидов точным мессенджером ацетилхолина на новообразовании на уровне фосфорилирования. Концентрация фосфорилирования процесс включения оротата является также аллостерическим регулятором тетазы [18], начального энзимидов.

Отсутствие подобного влияния ацетилхолина на синтез РНК высшим уровнем по сравнению с двумя другими тканями свидетельствует о зависимости влияния нуклеотидов от органной функции и других сторон обмена веществ.

L. A. Dubi

CHANGES IN CORRELATION OF PRECURSOR SYNTHESIS IN THE GASTROINTESTINAL TRACT UNDER THE INFLUENCE OF ACETYLCHOLINE

It was shown that the rate of incorporation of labeled precursors into the RNA of the soluble fraction was two orders of magnitude higher in the pancreas of rats. The rate of incorporation of labeled precursors into the RNA of the soluble fraction was the highest in the pancreas. The rate of incorporation of labeled precursors into the RNA of the soluble fraction was the highest in the pancreas. The rate of incorporation of labeled precursors into the RNA of the soluble fraction was the highest in the pancreas.

Department of Human and Animal Physiology, I. Franko State University, Lvov

1. Ворновицкая Г. И., Дубицкий Л. А. Влияние ацетилхолина на синтез РНК в двух путях синтеза предшественников пиримидиновых нуклеотидов. — Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1969, 34, вып. 3, с. 524—528.
2. Глебов Р. Н., Поздняков О. В. Влияние ацетилхолина на синтез РНК in vitro $[2-^{14}\text{C}]$ -оротовой кислоты. — Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1969, 34, вып. 3, с. 524—528.

не влияя на подобное поступление в слизистую оболочку желудка и поджелудочной железы.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об органической специфике влияния ацетилхолина на распределение радиоактивного уридина и оротовой кислоты в исследуемых органах. Наблюдаемые эффекты нельзя удовлетворительно объяснить возможными гемодинамическими сдвигами в тканях пищеварительных желез под влиянием ацетилхолина [5], о чем свидетельствует отсутствие однонаправленности в поступлении радиоактивного уридина и оротовой кислоты в исследуемые ткани. Учитывая данные о быстром проникновении оротата в ткани животных [17], мы считаем, что увеличение скорости поступления меченого оротата в РНК и КРФ слизистой оболочки желудка и поджелудочной железы под влиянием ацетилхолина обусловлено потребностями клеточного обмена веществ. Это согласуется с литературными данными о стимулировании ацетилхолином новообразования пиримидиновых нуклеотидов в других тканях, в том числе в изолированном сердце лягушки [10] и синапсах мозга крыс [2]. Сопоставляя полученные нами и литературные данные об аллостерической активации фосфорибозилпирофосфатсинтетазы цГМФ [13], являющейся клеточным мессенджером ацетилхолина [4], следует полагать, что влияние ацетилхолина на новообразование пиримидиновых нуклеотидов осуществляется на уровне фосфорибозилпирофосфатсинтетазной реакции. Концентрация фосфорибозилпирофосфата не только может лимитировать процесс включения оротата в пиримидиновые нуклеотиды [16], но является также аллостерическим активатором карбамоилфосфатсинтетазы [18], начального фермента синтеза *de novo* пиримидиновых нуклеотидов.

Отсутствие подобного эффекта в печени, а также накопление под влиянием ацетилхолина меченого уридина в КРФ этого органа, со значительно высшим уровнем новообразования пиримидиновых нуклеотидов по сравнению с двумя другими органами (табл. 2), свидетельствует о зависимости влияния ацетилхолина на обмен пиримидиновых нуклеотидов от органической специфики этого обмена и, по-видимому, от других сторон обмена веществ в исследуемых органах.

L. A. Dubitsky, I. V. Shostakovskaya

CHANGES IN CORRELATION OF TWO PATHWAYS OF RNA PYRIMIDINE
PRECURSOR SYNTHESIS IN CERTAIN ORGANS OF THE DIGESTIVE
TRACT UNDER ACETYLCHOLINE INFLUENCE

Summary

It was shown that the rate of [2-¹⁴C]-orotic acid inclusion into RNA and acid-soluble fraction was two order higher in the liver than in the stomach mucosa and pancreas of rats. The rate of [2-¹⁴C]-uridin inclusion into RNA and total acid-soluble fraction was the highest in the pancreas. Intraperitoneal acetylcholine injection to animals increased the rate of [2-¹⁴C]-orotic acid inclusion into RNA and acid-soluble fraction of the stomach mucosa and pancreas but not of the liver. Acetylcholine promoted accumulation of [2-¹⁴C]-uridin in the acid-soluble fraction of the liver and had no influence on its inclusion into the stomach mucosa and pancreas.

Department of Human and Animal Physiology,
I. Franko State University, Lvov

Список литературы

1. Ворновицкая Г. И., Дубинина И. Г., Герштейн Е. С. и др. Изменение соотношения двух путей синтеза предшественников РНК в тканях животных с быстрорастущими гепатомами.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1979, № 3, с. 267—270.
2. Глебов Р. Н., Поздняков О. М. Стимулирующий эффект ацетилхолина на включение *in vitro* [2-¹⁴C]-оротовой кислоты в синапсомы мозга у крыс.— Биохимия, 1969, 34, вып. 3, с. 524—528.

3. Губерниев М. А., Ильина Л. И. Скорость обновления фосфонулеопротенда в пищеварительных железах.— Докл. АН СССР, 1951, 71, № 2, с. 351—353.
4. Кожемякин Л. А., Коростовцев Д. С., Королева Т. Р. Циклические нуклеотиды в клинической и экспериментальной медицине.— В кн.: Циклические нуклеотиды. М.: Наука, 1979, с. 92—128.
5. Курцин И. Т. Кровоснабжение главных пищеварительных желез.— Л.: Наука, 1978.—164 с.
6. Матвеев В. Н. Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов в нормальной и регенерирующей костной ткани.— Вopr. мед. химии, 1980, № 2, с. 162—164.
7. Николов Т. К., Данев П. К. Содержание нуклеиновых кислот в слизистой желудка у кошек натощак и при возбуждении секреторной деятельности.— Укр. биохим. журн., 1958, 30, № 5, с. 652—655.
8. Свистун Т. И., Загороднева А. Г., Наливайко Д. Г. Роль нуклеиновых кислот и белков слизистой оболочки желудка в секреторном процессе.— Физиол. журн., 1981, 27, № 1, с. 101—106.
9. Ткачук А. М. Исследование синтеза пиримидиновых нуклеотидов у цыплят: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Киев, 1980.— 24 с.
10. Турпаев Т. М., Путинцева Т. Г. Биохимический механизм саморегуляции холинэргического медиаторного процесса.— Успехи физиол. наук, 1974, 5, № 1, с. 17—47.
11. Шаткин А. Определение содержания РНК, ДНК и белка с помощью меченых предшественников и последующего химического фракционирования.— В кн.: Методы вирусологии и молекулярной биологии. М.: Мир, 1972, с. 191—193.
12. Шостаковская И. В. Экспериментальный анализ работоспособности поджелудочной железы: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— Львов, 1968.— 40 с.
13. Green C. D., Martin D. W. A Direct Stimulating Effect of Cyclic GMP on Purified Phosphoribosyl Pyrophosphate Synthetase and its Antagonism by Cyclic AMP.— Cell, 1974, N 4, p. 241—245.
14. Hogans A. F., Guroff G., Udenfriend S. Studies on the origin of pyrimidines for biosynthesis of neural RNA in the rat.— J. Neurochem., 1971, 18, N 9, p. 1699—1710.
15. Harley E. H., Losman M. J. Anabolic and catabolic pathways of pyrimidine metabolism in rat liver.— Int. J. Biochem., 1981, 13, N 2, p. 247—249.
16. Jones M. E. Pyrimidine nucleotide biosynthesis in animals: genes, enzymes, and regulation of UMP biosynthesis.— Ann. Rev. Biochem., 1980, 49, p. 253—279.
17. Lewan L., Petersen I., Yügnér T. Incorporation of Orotic Acid into Nucleotides and RNA in Mouse Organs during 60 Minutes.— Hoppe-Seyler Z. Physiol. Chem., 1975, 356, p. 425—429.
18. Lipkin M. Cell proliferation in the gastrointestinal tract in man.— Fed. Proc., 1965, N 1, p. 10—14.
19. Tatibana M., Shigesada K. Two carbamyl phosphate synthetases of mammals. Specific roles in control of pyrimidine and urea biosynthesis.— Adv. Enzyme Regul., 1972, 10, p. 249—255.
20. Tatibana M., Ito K. Control of Pyrimidine Biosynthesis in Mammalian Tissues.— J. Biol. Chem., 1969, 244, N 19, p. 5403—5414.
21. Witschi H. Comparative study of in vivo RNA and protein synthesis in rat liver and lung.— Cancer Res., 1972, 32, N 8, p. 1686—1694.
22. Szostakowska I. W. Regulacja nerwowa przemiany kwasów nukleinowych i fosfolipidów w tkance trzustki w okresie wydzielania.— Annales UMCS Lublin—Polonia, 1965, 20, N 42, p. 349—363.

Кафедра физиологии человека и животных
Львовского университета

Поступила 14.05.82

УДК 612.385:577.17

С. В. Вовча
А. П.

ВЛИЯНИЕ КАЛЛИКРИНА НА

Внимание исследователей новой системы в регуляции фактора кининовой системы рассматривается как гуморальных регуляторов кровяного давления [7, 38, 42].

Литературные данные о физиологических функциях желудка показывают, что в нем происходят значительные изменения в его активности, связанные с деятельностью болевых синдромов, полученных в клинических условиях. Исследования в этой области направлены на то, чтобы регулировать моторную деятельность и кислотность желудка, а также клетки слизистой оболочки желудка.

Влияние калликреин-кининовой системы на физиологических функциях желудка и гладкой мускулатуры. Исследования в этой области направлены на то, чтобы регулировать моторную деятельность и кислотность желудка, а также клетки слизистой оболочки желудка.

На различные отделы желудочно-кишечного тракта оказывает значное действие: расслабляет кишечник (у кроликов кинин вызывает расслабление кишечника), крашают нижележащие отделы артериальное введение брадикинина. Внутривенное введение брадикинина вызывает эффект.

Биологическое действие калликреина вызывает на возможное влияние кинина [25]. Подтверждающие высвобождение кинина мышечного препарата желудка.

Расслабляющее действие калликреина осуществляется через несколько секунд после введения препарата. Восстановление кинина [25].

Однократная инъекция кинина интенсифицирует и циклическую (6—8 ч) моторную деятельность образующих ферментов, в желудке действие, противостоит фазе активации моторной активности калликреинов и в многом зависит тонус мускулатуры.