

Р. Г. КАМАЛЯН, Г. Х. БУНЯТЯН, С. Г. МОВСЕСЯН

УЧАСТИЕ НЕКОТОРЫХ НУКЛЕОТИДОВ И ПИРИДОКСАЛЬ- ФОСФАТА В ПРЕВРАЩЕНИЯХ ГЛУТАМАТА В МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ МОЗГА

Ряд исследований показал, что ионы металлов (в частности Mg^{++} , Ca^{++} и др.), а также адениннуклеотиды регулируют процессы транспорта электронов и фосфорилирования в дыхательной цепи [1, 7, 9, 21, 22, 29, 30, 34]. В предыдущей работе нами было показано, что Mg^{++} и АТФ* совместно оказывают стимулирующее действие на утилизацию глутаминовой кислоты (ГК) в митохондриальной фракции мозга белых крыс [4]. Это действие не проявляется в отсутствие одного из указанных факторов.

Учитывая литературные данные о стимулирующем действии отдельных нуклеотидов, в частности АДФ, АТФ и НАД, на дыхание при использовании в качестве субстратов окисления α -кетоглутарата, ГК и других НАД-специфичных субстратов [10, 11, 17, 19, 43], а также наличие Mg^{++} —стимулируемой АТФ-азной активности в митохондриях мозга [32, 44], мы задались целью изучить влияние АДФ и других моно- и динуклеотидов, а также кофактора трансаминирования пиридоксальфосфата (ПФ) на обмен ГК. В связи с обнаружением в нашей лаборатории [2, 3] факта деаминирования НАД и возможного реаминирования его деаминоформы аминокислотами, в частности аспарагиновой кислотой (АК), предметом нашего исследования явилось также влияние деамино-НАД на уровень эндогенных и добавленных АК и ГК.

Экспериментальная часть. Опыты проводили на белых крысах весом 150—200 г. Гомогенизацию проводили в 0,25М растворе сахарозы. Для получения митохондрий гомогенат фракционировали по методу Броди и Бейна [20] в модификации Палладина и Кирсенко [13]. О биохимической активности митохондрий судили путем определения окислительного фосфорилирования [35], применяя в качестве субстрата сукцинат. Суспензию митохондрий (0,5 мл), соответствующую 500 мг свежей ткани, инкубировали в среде, содержащей 0,1 мл 0,133 М К-фосфатного буфера (рН 7,4), 0,15 мл 0,2 М Трис-НСl буфера (рН 7,4), 0,1 мл 0,12 М $MgSO_4$. Смесь доводили 0,25 М сахарозой до 1,5 мл. Отдельные пробы содержали АТФ, АДФ, ГТФ, ИТФ (по 1 мкмоль), НАД (2,86 мкмоль), деамино-

* В тексте приведены сокращенные названия ряда веществ: АТФ—аденозинтрифосфат; АДФ—аденозиндифосфат; ГТФ—гуанозинтрифосфат; ИТФ—инозинтрифосфат; НАД—никотинамид-адениндинуклеотид; деамино-НАД—никотинамид—гипоксантиндинуклеотид; АТФ-аза—АТФ—фосфогидролаза; НАД-аза—НАД-гликогидролаза.

Остальные сокращения расшифрованы в тексте.

НАД (1,43 мкмоль), никотинамид (НА) с НАД (8,2 мкмоль), НА с деамино-НАД (4,1 мкмоль), ПФ (2,0 мкмоль), ГК—26,0 и 6,5 мкмоль, АК—6,5 мкмоль.

После 2-часовой инкубации при 37° добавляли трихлоруксусную кислоту (ТХУ) (конечная концентрация 2%), отделяли центрифугированием безбелковый экстракт, из которого ТХУ экстрагировали эфиром. Аминокислоты в безбелковом экстракте разделяли методом высоковольтного электрофореза в пиридин-ацетатном буфере. Пятна проявляли раствором нингидрина в ацетоне в течение 20 мин. экспозиции при 80°C. Аммиак определяли методом Зелигсона в модификации Силаковой и сотр. [8], белок—методом Лоури и сотр. [36]. Количество аминокислот высчитывали в мкмоль на 100 мг митохондриального белка.

Результаты и обсуждение. В течение 2-часовой инкубации утилизируется 4,4 мкмоль ГК (22%) (табл. 1). За счет ГК в таком же количестве

Таблица 1

Влияние некоторых мононуклеотидов на содержание эндогенных ГК, АК ГАМК (мкмоль/100 мг белка) в митохондриальной фракции мозга

Условия опыта	Убыль ГК	Образование АК	Образование ГАМК
Контроль	4,4±0,4 (6)	4,5±0,3 (6)	0,3±0,1 (6)
АДФ	11,5±0,7 P<0,001 (6)	10,5±0,6 P<0,001 (6)	-0,4±0,08 (6)
АТФ	11,6±0,3 P<0,001 (6)	12,0±0,7 P<0,001 (6)	-0,5±0,08 (6)
ГТФ	4,3±0,5 P>0,5 (6)	4,9±0,3 0,1>P>0,05 (6)	0,8±0,3 (6)
ИТФ	8,0±0,7 P<0,001 (6)	5,1±0,6 P>0,1 (6)	0,5±0,17
АДФ (без Mg ⁺⁺)	11,2±0,7 P<0,05 (6)	6,2±0,7 P<0,005 (6)	-0,4±0,14 (6)

повышается уровень АК. Содержание γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) почти не меняется. АТФ в присутствии добавленных ионов магния стимулирует процесс образования АК из ГК. Это явление отмечалось и в наших прежних исследованиях [4]. Утилизация ГК составляет 11,6 мкмоль (56%), т. е. возрастает в 2,5 раза по сравнению с инкубированным контролем, и она целиком переходит в АК. Примерно такая же картина наблюдается и в пробах с АДФ. Разница заключается в том, что АК из утилизированной ГК образуется в количестве 85%. ГАМК в обеих пробах не претерпевает заметных изменений.

Нами было показано, что при отсутствии Mg⁺⁺ АТФ не оказывает Биологический журнал Армении, XXI, № 5—2

влияния на утилизацию ГК [4]. Учитывая, что митохондриальная фракция мозга содержит АТФ-азу [32, 44], активируемую Mg^{++} , можно было думать о том, что действие АТФ обуславливается его превращением в АДФ. Однако, как видно из табл. 1, АДФ при отсутствии Mg^{++} также вызывает усиление утилизации ГК, но количество АК повышается в гораздо меньшей степени, чем в опытах с добавлением АДФ и Mg^{++} . Убыль ГК в обоих случаях одинакова, тогда как образование АК из ГК в присутствии АДФ и Mg^{++} составляет 85%, а одного АДФ—22%. В литературе имеются данные об активации глутаматдегидрогеназы, выделенной из различных тканей (в т. ч. и мозговой) со стороны АДФ и АТФ [24, 25, 38], но вряд ли можно объяснить стимулирующее влияние АТФ и АДФ на утилизацию ГК через глутаматдегидрогеназу, так как равновесие этой реакции благоприятствует синтезу ГК в присутствии α -кетоглутарата и каталитических количеств аммиака [6, 23, 39, 45].

Как свидетельствуют полученные данные, в отсутствии добавленных ионов магния, несмотря на усиленную утилизацию ГК, образование АК подавляется. Выяснение этого вопроса требует дальнейших исследований. Объяснение уменьшения количества АК при отсутствии Mg^{++} тем, что она утилизируется через образование аденило-сукцината или НАД-сукцината, встречает ряд возражений, так как Mg^{++} необходим для образования этих соединений. В исследованиях Балаша и сотр. [16] АДФ в несколько раз усиливал скорость дыхания митохондриальной фракции мозга с α -кетоглутаратом и ГК в качестве субстратов окисления. При этом также стимулировалась утилизация самих субстратов [15]. 2-4-динитрофенол (ДНФ) не стимулировал дыхания в присутствии α -кетоглутарата или ГК. Добавление АДФ с ДНФ повышало поглощение кислорода. На основании того, что ДНФ не влияет на процесс фосфорилирования на уровне окисления α -кетоглутарата, Балаш полагает, что действие АДФ связано с окислением α -кетоглутарата. Другие авторы придерживаются мнения, что действие АДФ и АТФ на утилизацию НАД-специфичных субстратов связано с ускорением транспорта электронов и сопряжением процессов окисления и фосфорилирования [12]. Добавление к митохондриям сердечной мышцы АТФ в опытах Скулачева и сотр. [12] вызывало окисление НАД-Н₂ и цитохрома «в» за счет восстановления цитохромов «с» и «а». Авторами высказывается предположение, что остаток аденина в нуклеотидах (НАД, АФД, АТФ) может катализировать образование макроэргической связи в трех последовательных звеньях цепи окислительного фосфорилирования. Помимо этого, обнаружены синхронные колебания SH-групп митохондрий в зависимости от концентраций АДФ. Добавление АДФ к митохондриям ведет к понижению SH-групп с увеличением дисульфидных связей, которые, как полагают, могут быть переносчиками электронов [5]. При этом, по-видимому, происходят и конформационные изменения митохондриальных белков с изменением активности ферментов. Так как трансаминаза ГК также является SH-ферментом, не исключено, что адениннуклеотиды оказывают воздействие и на этот энзим.

В одной из последних работ Балаш [15] объясняет усиление утилизации ГК под действием АДФ генерацией щавелево-уксусной кислоты (ЩУК).

Учитывая многостороннее действие адениннуклеотидов на процессы окисления и фосфорилирования, мы склонны думать, что процесс фосфорилирования на уровне окисления α -кетоглутарата не является основной причиной в механизме действия АДФ на обмен ГК, так как добавление ГТФ не вызывает усиления утилизации ГК (табл. 1 и 2).

Таблица 2

Действие некоторых мононуклеотидов на утилизацию добавленной ГК* и образование АК и ГАМК (мкмоль/100 мг белка) в митохондриальной фракции мозга

Условия опыта	Убыль ГК	Образование АК	Образование ГАМК
Контроль	$30,5 \pm 2,7$ (6)	$22,2 \pm 1,5$ (6)	$6,5 \pm 0,3$ (6)
АДФ	$152,0 \pm 4,0$ $P < 0,001$ (6)	$105,0 \pm 10,0$ $P < 0,001$ (6)	$7,5 \pm 1,0$ (6)
АТФ	$152,0 \pm 2,0$ $P < 0,001$ (6)	$109,0 \pm 8,0$ $P < 0,001$ (6)	$5,7 \pm 0,5$ (6)
ГТФ	$30,5 \pm 4,8$ $P > 0,5$ (6)	$20,7 \pm 1,0$ $P > 0,5$ (6)	$5,5 \pm 0,7$ (6)
ИТФ	$64,6 \pm 1,0$ $P < 0,001$ (6)	$33,8 \pm 3,0$ $P < 0,001$ (6)	$8,0 \pm 1,0$ (6)
АДФ (без Mg^{++})	$279,0 \pm 4,0$ $P < 0,001$ (6)	$240,0 \pm 8,0$ $P < 0,001$ (6)	$8,0 \pm 1,0$ (6)

* Все пробы содержат по 26 мкмоль ГК.

Принимая во внимание вышеприведенные данные, а также результаты наших опытов, в которых АТФ усиливал утилизацию добавленного α -кетоглутарата (неопубликованные данные), а ГТФ, в отличие от АТФ, не повышал утилизацию ГК, можно полагать, что в присутствии АДФ и АТФ происходит усиленное образование ЩУК и тем самым стимулирование трансаминирования ГК. Интересно отметить, что в присутствии магния, как показали исследования Балаша и сотр. [16], содержание ЩУК в среде понижается. Данные действия других мононуклеотидов на уровень эндогенных аминокислот, приведенные в табл. 1, показывают, что ГТФ не влияет на содержание ГК, АК и ГАМК. ИТФ, стимулируя утилизацию эндогенной ГК (39%), не вызывает соответствующего повышения уровня АК. По-видимому, подобное действие ИТФ можно объяснить тем, что при его участии происходит декарбоксилирование ЩУК с образованием фосфоэнолпирувата.

В последующих опытах мы изучали влияние вышеуказанных мононуклеотидов на обмен добавленной ГК. Полученные результаты показывают, что и в этих экспериментах АТФ и АДФ значительно усиливают утилизацию ГК и образование АК (табл. 2). ГТФ не обладает подобным действием. ИТФ несколько стимулирует утилизацию ГК по сравнению с контрольными опытами, не обеспечивая количественное превращение ГК в АК. Количество ГК по сравнению с контрольными опытами уменьшается на 34,1 мкмоль, а прирост АК составляет всего 11,6 мкмоль. Следует отметить, что АДФ при добавлении ГК в отсутствие ионов магния еще больше стимулирует утилизацию ГК, при этом образуются значительные количества АК. Так, например, в опытах с АДФ + Mg^{++} убыль ГК составляет 152, а прирост АК—105 мкмоль/100 мг белка. В опытах с одним АДФ—279 и 240 мкмоль соответственно. В последнем случае происходит весьма интенсивное образование АК. Исследования Балаша и сотр. [16] показали, что в митохондриальной фракции мозга при окислении сукцината отсутствие ионов магния в пробах, содержащих АДФ, приводит к накоплению ЩУК. На основании этих данных мы полагаем, что усиление трансаминирования ГК в отсутствие ионов магния происходит в результате увеличения концентрации ЩУК.

В следующей серии опытов мы изучали влияние кофакторов ферментов обмена ГК—НАД и ПФ. Для предотвращения расщепления НАД НАД-азой, обладающей в мозгу высокой активностью [26, 28, 31, 33, 37], добавляли НА. По ряду данных НАД-аза наряду с гидролитическим расщеплением НАД на НА и АДФ-рибозу может также переносить остаток последней на НА и другие пиримидиновые основания [18, 27, 47—49], чем и объясняется ингибирующее действие НА на НАД-азу.

Как видно из данных табл. 3, НА не действует на содержание эндогенных аминокислот. НАД+НА и ПФ усиливают утилизацию эндогенной ГК, но образование АК при этом не отмечается. Наоборот, происходит понижение ее уровня. Так, например, утилизация ГК в контрольных опытах составляет 5,6, образование АК—5,8, ГАМК—0,2 мкмоль. В пробе НАД+НА ГК утилизируется в количестве 10,3 мкмоль, а прирост АК составляет лишь 3,7 мкмоль, т. е. ее содержание по сравнению с контролем уменьшается на 2,1 мкмоль. В пробе с ПФ содержание ГК уменьшается на 9,0 мкмоль, а АК образуется всего лишь 2,1 мкмоль, т. е. уменьшается по сравнению с контролем на 3,7 мкмоль. При этом отмечается значительное образование ГАМК—5,4 мкмоль.

Бунятяном и Мовсесяном [2, 3] было показано, что НАД деаминируется в митохондриальной фракции мозга, причем деаминирование происходит на уровне аденинового остатка цельной молекулы НАД, в результате чего образуется деамино-НАД, который при добавлении АК усиливает выход аммиака. Бунятян и Мовсесян считают, что в митохондриальной фракции мозга имеет место процесс реаминирования деамино-НАД при участии АК с образованием НАД, который вновь подвергается деаминированию. Принимая во внимание, что НАД вдвое усиливает утилизацию добавленной ГК и образование из нее АК в мозгу путем генерации ЩУК [15], можно заключить, что ГК переходит в АК, а послед-

Таблица 3

Сдвиги в содержании эндогенных ГК, АК и ГАМК (мкмоль/100 мг белка) в присутствии ПФ, НА, НАД и АТФ в митохондриальной фракции мозга

Условия опыта	Убыль ГК	Образование АК	Образование ГАМК
Контроль	$5,6 \pm 0,9$ (6)	$5,8 \pm 0,8$ (6)	$0,20 \pm 0,0$ (6)
НА	$5,5 \pm 0,7$ $P > 0,5$ (6)	$5,7 \pm 1,0$ $P > 0,5$ (6)	$0,15 \pm 0,15$ $P > 0,5$ (6)
НАД	$8,5 \pm 0,6$ $P < 0,001$ (6)	$8,0 \pm 0,9$ $P < 0,005$ (6)	$1,05 \pm 0,5$ $P < 0,005$ (6)
НА+НАД	$10,4 \pm 0,4$ $P < 0,001$ (6)	$3,7 \pm 0,2$ $P < 0,025$ (6)	$-0,6 \pm 0,1$ $P < 0,025$ (6)
АТФ	$11,5 \pm 0,9$ $P < 0,01$ (6)	$11,9 \pm 0,3$ $P < 0,001$ (6)	$0,1 \pm 0,1$ $P > 0,1$ (6)
АТФ+НАД+НА	$13,3 \pm 0,6$ (6)	$14,4 \pm 1,5$ (6)	$-0,65 \pm 0,5$ (6)
ПФ	$9,0 \pm 0,4$ $P < 0,005$ (6)	$2,1 \pm 0,2$ $P < 0,005$ (6)	$5,45 \pm 0,9$ $P < 0,001$ (6)
ПФ+АТФ	$12,4 \pm 0,3$ (6)	$2,9 \pm 0,6$ (6)	$1,65 \pm 0,8$ (6)
ПФ+НА+НАД	$13,8 \pm 0,3$ (6)	$4,15 \pm 0,6$ (6)	$-0,65 \pm 0,7$ (6)
ПФ+НА+НАД+АТФ	$17,25 \pm 0,8$ (6)	$5,9 \pm 1,3$ (6)	$-1,05 \pm 0,4$ (6)

няя распадается с участием деамино-НАД, образующимся вследствие деаминарования НАД.

Таким образом, НАД, с одной стороны, повышает выход АК путем генерации ЩУК, а с другой, превращаясь в деамино-НАД, способствует деаминарованию АК с образованием свободного аммиака.

Что касается действия ПФ, то согласно ряду данных он обладает бóльшим сродством с апоферментом трансаминазы, чем декарбоксилазы ГК [40, 41], также локализованной в митохондриальной фракции [14, 46]. Насыщение декарбоксилазы ПФ вызывает усиление ее активности, в связи с чем и возрастает образование ГАМК из ГК. Прирост ГАМК в пробе с ПФ несколько превышает убыль ГК. Наряду с этим значительно уменьшается количество АК. По всей вероятности, некоторая часть ГАМК образуется из АК в результате обращения трансаминирования в сторону синтеза ГК. Однако убыль АК превышает прирост ГАМК, что говорит о возможности утилизации АК иными путями, активируемыми ПФ. При добавлении НАД без НА наблюдается уменьшение количества

эндогенной ГК на 2,9 мкмоль и соответствующее увеличение количества АК на 2,2 мкмоль по сравнению с контрольной пробой. Это действие присуще адениннуклеотидам, но в данном случае выражено слабо. Можно полагать, что НАД без стабилизации его молекулы НА подвергается воздействию НАД-азы с образованием некоторого количества АДФ-рибозы, которая может затем перейти в АДФ, а последний, как указывалось выше, стимулирует утилизацию ГК и образование АК. Интересное явление наблюдается в опытах с НАД+НА+АТФ. Здесь отмечается несколько большая утилизация ГК и большее образование АК, чем в присутствии одного АТФ. Так, при наличии АТФ утилизация ГК по сравнению с контролем увеличивается на 5,9 мкмоль, образование АК на 6 мкмоль, а в пробе с АТФ+НАД+НА—7,7 мкмоль и 8,6 мкмоль соответственно (ГАМК уменьшается на 0,8 мкмоль).

Таким образом, в этих опытах отмечается та же закономерность, что и при добавлении одного АТФ, но в более выраженной степени. При стабилизации НАД НА-ом наряду с выраженной утилизацией ГК содержание АК понижалось. Это явление обусловлено деаминированием НАД, которое играет существенную роль в утилизации АК. Между АТФ и НАД имеются конкурентные взаимоотношения в процессе их деаминирования [2, 3]. Можно полагать, что АТФ тормозит деаминирование НАД и тем самым препятствует утилизации АК. С другой стороны, НАД тормозит деаминирование АТФ, усиливая его воздействие на процесс трансаминирования ГК. Представляет интерес и тот факт, что АТФ и АДФ препятствуют проникновению НАД в митохондрии [15], где он подвергается деаминированию. ПФ (табл. 3) усиливает утилизацию ГК, понижает уровень АК и стимулирует образование ГАМК. В пробе ПФ+АТФ утилизация ГК повышается. При этом значительно подавляется образование ГАМК. Действие АТФ на образование ГАМК представляет несомненный интерес и, возможно, это явление связано с торможением активности глутаматдекарбоксилазы.

Еще большее подавление выхода ГАМК отмечается в пробе ПФ+НАД+НА, где количество ГАМК не претерпевает никаких изменений по сравнению с пробой, содержащей лишь НАД+НА, т. е. НАД полностью снимает эффект ПФ на образование ГАМК.

При одновременном действии всех трех кофакторов отмечается резкое снижение ГК (на 12 мкмоль по сравнению с инкубированным контролем), уровень АК достигает контрольных величин, а количество ГАМК уменьшается на 1,25 мкмоль.

Полученные данные свидетельствуют, что АТФ и НАД оказывают тормозящее действие на образование ГАМК и снимают эффект ПФ на этот процесс. Обнаруженные нами факты представляют существенный интерес, а выяснение механизма действия НАД и АТФ на обменные процессы ГАМК нуждается в дальнейших исследованиях.

Исходя из вышеописанных фактов деаминирования НАД и возможного реаминирования деамино-НАД АК, в дальнейшем мы исследовали влияние деамино-НАД в отдельности и в сочетаниях с АТФ и ПФ на уровень эндогенных аминокислот. Из табл. 4 видно, что деамино-НАД,

Таблица 4

Изменения в содержании эндогенных ГК, АК и ГАМК (мкмоль/100 мг белка) под действием деамино-НАД, НА, АТФ и ПФ в митохондриальной фракции мозга

Условия опыта	Убыль ГК	Образование АК	Образование ГАМК
Контроль	$4,2 \pm 0,5$ (6)	$4,0 \pm 0,8$	$1,25 \pm 0,6$
НА	$4,3 \pm 0,4$ $P > 0,5$ (6)	$4,3 \pm 0,9$ $P > 0,5$ (6)	$1,2 \pm 0,8$ $P > 0,5$ (6)
Д—НАД	$5,2 \pm 0,9$ $P < 0,05$ (6)	$2,0 \pm 1,4$ $P < 0,025$ (6)	$0,65 \pm 0,4$ $P > 0,1$ (6)
НА+Д—НАД	$6,4 \pm 0,2$ $P < 0,001$ (6)	$3,6 \pm 0,8$ $P > 0,2$ (6)	$-0,4 \pm 0,3$ $P < 0,001$ (6)
ПФ	$8,1 \pm 0,9$ $P < 0,001$ (6)	$-0,08 \pm 0,02$ $P < 0,001$ (6)	$5,4 \pm 1,4$ $P < 0,001$ (6)
АТФ	$10,8 \pm 0,4$ $P < 0,001$ (6)	$10,5 \pm 1,0$ $P < 0,001$ (6)	$0,5 \pm 0,5$ $P > 0,1$ (6)
ПФ+АТФ	$11,3 \pm 0,5$ (6)	$2,3 \pm 1,6$ (6)	$2,65 \pm 1,4$ (6)
Д—НАД+НА+АТФ	$12,2 \pm 0,5$ (6)	$8,3 \pm 1,6$ (6)	$-0,5 \pm 0,5$ (6)
Д—НАД+НА+ПФ	$9,0 \pm 0,3$ (6)	$0,8 \pm 0,6$ (6)	$1,9 \pm 1,4$ (6)
Д—НАД+НА+ПФ+АТФ	$12,2 \pm 0,5$ (6)	$1,8 \pm 1,6$ (6)	$1,3 \pm 0,8$ (6)

добавленный без НА, вызывает некоторую убыль эндогенных аминокислот: ГК на 1 мкмоль, АК—2 мкмоль, ГАМК—0,6 мкмоль.

В пробе деамино-НАД+НА наблюдается некоторое перераспределение в содержании аминокислот (ГК уменьшается на 2,2; АК—0,4 и ГАМК—1,6 мкмоль), однако суммарное уменьшение почти одинаково.

При добавлении деамино-НАД+НА с АТФ или ПФ отмечается преимущественно действие последних на уровень эндогенных ГК и АК. Однако по сравнению с пробой, содержащей только АТФ, в пробе с АТФ+деамино-НАД+НА уменьшение ГК составляет 1,4 мкмоль, АК—1,9, ГАМК—1,0. Подавление выхода ГАМК из ГК отмечается и под действием деамино-НАД. Так, по сравнению с пробой, содержащей ПФ, в пробе ПФ+деамино-НАД количество ГАМК понижается на 3,5 мкмоль. Не исключено, что образующийся из ГК ГАМК может распадаться через деамино-НАД.

При сравнении действия деамино-НАД в присутствии ПФ и АТФ на

содержание эндогенных ГК, АК и ГАМК отмечается тенденция к снижению их уровня по сравнению с пробой, содержащей АТФ+ПФ.

В дальнейших опытах мы изучали изменения в уровне добавленных АК и ГК в присутствии деамино-НАД (табл. 5 и 6). Полученные резуль-

Таблица 5

Влияние деамино-НАД+НА на утилизацию добавленной АК* и уровень ГК, ГАМК и NH_3 (мкмоль/100 мг белка) в митохондриальной фракции мозга

Условия опыта	Убыль АК	Образование ГК	Образование ГАМК	Образование NH_3
Контроль	$10,5 \pm 2,2$ (6)	$1,6 \pm 1,3$ (6)	$0,16 \pm 0,19$ (6)	$10,2 \pm 1,4$ (6)
Д-НАД+НА	$22,8 \pm 2,9$ $P < 0,001$ (6)	$3,4 \pm 0,07$ $P < 0,05$ (6)	$-0,4 \pm 0,07$ $P > 0,1$ (6)	$18,0 \pm 2,5$ $P < 0,01$ (6)

* АК добавляли по 6,5 мкмоль на пробу.

Таблица 6

Влияние деамино-НАД+НА на утилизацию добавленной ГК* и уровень АК, ГАМК и NH_3 (мкмоль/100 мг белка) в митохондриальной фракции мозга

Условия опыта	Убыль ГК	Образование АК	Образование ГАМК	Образование NH_3
Контроль	$12,9 \pm 1,1$ (6)	$6,8 \pm 1,0$ (6)	$2,0 \pm 0,4$ (6)	$7,1 \pm 1,5$ (6)
Д-НАД+НА	$21,1 \pm 4,4$ $P < 0,01$ (6)	$7,4 \pm 0,4$ $P > 0,5$ (6)	$2,3 \pm 0,8$ $P > 0,2$ (6)	$11,7 \pm 2,2$ $P < 0,025$

* ГК добавляли по 6,5 мкмоль на пробу.

таты показывают, что количество АК под действием деамино-НАД+НА снижается на 12,3 мкмоль по сравнению с контрольной пробой.

Уровень утилизированной АК в контрольных опытах составляет 10,5 мкмоль, а в пробах с деамино-НАД+НА—22,8. Изменения ГК и ГАМК при этом незначительны. Кроме того, отмечается и увеличение выхода NH_3 (в контроле—10,2 мкмоль, с деамино-НАД+НА—18,0).

Деамино-НАД несколько стимулирует и утилизацию добавленной ГК (табл. 6). Количество ее в пробах с деамино-НАД уменьшается на 8,2 мкмоль по сравнению с контролем. Отмечается также увеличение выхода NH_3 на 4,6 мкмоль.

В опытах с печеночной тканью нами было обнаружено, что деамино-НАД значительно интенсивнее повышает утилизацию АК и ГК с образованием больших количеств аммиака, чем в мозговой ткани.

Полученные нами результаты говорят в пользу выдвинутого Бунятяном и Мовсесяном представления о новой функции деамино-НАД в деаминировании аминокислот через АК в животном организме.

Ռ. Գ. ՔԱՄԱՅԱՆ, Հ. Խ. ԲՈՒՆՅԱՆ, Ս. Գ. ՄՈՎՍԵՅԱՆ

ՄԻ ՔԱՆԻ ՆՈՒԿԼԵՈՏԻԴՆԵՐԻ ԵՎ ՊԻՐԻԴՈՔՍԱԼՖՈՍՖԱՏԻ
ՄԱՍՆԱԿՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԳԼՈՒՏԱՄԱՏԻ ՓՈՆԱԿԵՐՊՈՒՄՆԵՐԻ
ՄԵՋ ԳԼԵՈՒՂԵՂԻ ՄԻՏՈՔՈՆԻՐԻԱԼ ՖՐԱԿՑԻԱՅՈՒՄ

Ա մ փ ո ւ մ

Ներկա աշխատության մեջ ուսումնասիրվել է մի քանի մոնոնուկլեոտիդների, ինչպես նաև ՆԱԴ-ի, դեամինո-ՆԱԴ-ի և ՊՖ-ի ազդեցությունը ԳԹ-ի, ԱԹ-ի և ԳԱԿԹ-ի փոխանակության վրա սպիրտակ առնետների գլխուղեղի միտոքոնդրիալ ֆրակցիայում: Ապացուցվել է, որ ԱՏՖ-ը և ԱԴՖ համարյա միանման չափերով են խթանում էնդոգեն ու ավելացրած ԳԹ-ի յուրացումը և ԱԹ-ի առաջացումը: Mg^{++} -ի բացակայության պայմաններում ԱՏՖ-ը չի գրսևորում նման ազդեցություն, մինչդեռ ԱԴՖ-ի էֆեկտը պահպանվում է: Ենթադրվում է, որ ԱՏՖ-ը ազդում է ԱԴՖ-ի փոխակերպման ճանապարհով, որը տեղի է ունենում ԱՏՖ-ազայի ներգործությամբ Mg^{++} -ի առկայության պայմաններում:

ԳՏՖ-ը նկատելի կերպով չի ազդում ինչպես էնդոգեն, այնպես էլ ավելացրած ԳԹ-ի փոխանակության վրա: ԻՏՖ-ը ավելի փոքր չափերով է նպաստում ԳԹ-ի յուրացմանը, ընդ որում վերջինիս էնդոգեն քանակների դեպքում ԱԹ-ի առաջացում բոլորովին չի դիտվում, իսկ գլուտամատի ավելացման դեպքում առաջացած ԱԹ-ի քանակը, ԱՏՖ-ի և ԱԴՖ-ի հետ համեմատած, շուրջ 7 անգամ փոքր է:

ՆԱ-ն նկատելի ազդեցություն չի գործում էնդոգեն ԳԹ-ի, ԳԱԿԹ-ի և ԱԹ-ի մակարդակի վրա:

ՆԱԴ-ը նշանակալից չափերով խթանում է ԳԹ-ի յուրացումը և ԱԹ-ի առաջացումը: ՆԱԴ+ՆԱ-ն ուժեղացնում է էնդոգեն ԳԹ-ի յուրացումը, միաժամանակ նպաստելով ԱԹ-ի մակարդակի իջեցմանը: Դեամինո-ՆԱԴ-ը իջեցնում է էնդոգեն ԱԹ-ի և ԳԹ-ի մակարդակը: Դեամինո-ՆԱԴ+ՆԱ-ն էլ ավելի մեծ չափերով է իջեցնում էնդոգեն ԳԹ-ի քանակը, չփոխելով ԱԹ-ի նախնական մակարդակը: Այս փորձերում իջնում է նաև ԳԱԿԹ-ի մակարդակը: Դեամինո-ՆԱԴ+ՆԱ-ն նպաստում է ավելացրած ԱԹ-ի և ԳԹ-ի յուրացմանը, որն ուղեկցվում է ազատ ամոնիակի նշանակալից քանակների առաջացմամբ: Այդ երևույթը ցայտուն կերպով է արտահայտված լյարդի միտոքոնդրիալ ֆրակցիայում:

ՊՖ-ը նպաստում է էնդոգեն ԳԹ-ի և ԱԹ-ի յուրացմանը և ԳԱԿԹ-ի առաջացմանը: ԳԱԿԹ-ի առաջացումը արգելակվում է ԱՏՖ-ի, ՆԱԴ+ՆԱ-ի կամ դեամինո-ՆԱԴ+ՆԱ-ի ավելացման դեպքում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Блюменфельд Л. А., Темкин М. И. Биофизика, 7, 731, 1962.
2. Бунятян Г. Х., Мовсесян С. Г. Вопросы биохимии мозга, Изд-во АН АрмССР, II, 1, 1966.
3. Бунятян Г. Х., Мовсесян С. Г. Тез. докл. IV Всесоюзн. конф. по биохимии, ЦНС, 20, 1966.
4. Қамалыан Р. Г., Мовсесян С. Г. Вопросы биохимии мозга, Изд-во АН Арм. ССР, II, 40, 1966.
5. Кондрашова М. Н., Озрина Р. Д., Николаева А. В. Материалы симпозиума «Структура и функции митохондрий», Изд-во Наука, М., 1966, стр. 121.

6. Мак-Ильвейн Г. Биохимия и центр. нерв. система, ИЛ, М., 1962.
7. Северин С. Е., Скулачев В. П., Киселев Л. Л. ДАН СССР, 128, 628, 1959.
8. Силакова А. И., Труш Г. П., Явилякова А. Вопросы мед. химии, 5, 538, 1962.
9. Скулачев В. П. Сб. Труды V Междунар. биохим. конгресса, Симпозиум V, М., Изд-во АН СССР, 1962.
10. Скулачев В. П. Сб. Тезисы докл. I Всесоюзн. биох. съезда, М.—Л., Изд-во АН СССР, 1, 73, 1964.
11. Скулачев В. П. Вопросы мед. химии, 9, 99, 1963.
12. Скулачев В. П., Евтодиенко Ю. В., Смирнова Е. Г., Чистяков Е. В., Ясайтис А. А. Материалы симпозиума «Структура и функции митохондрий», Изд-во Наука, М., 1966, стр. 100.
13. Палладин А. В., Кирсенко О. В. Биохимия, 26, 385, 1961.
14. Шатунова Н. Ф. Биохимия, 29, 647, 1964.
15. Balazs R. Biochem. J., 95, 2, 497, 1965.
16. Balazs R., Biesold D., Magyar D. J. Neurochem., 10, 685, 1963.
17. Balazs R., Magyar R., Richter D. 5-th Internat. Neurochem. Symposium. 1962, Ed. by Richter D., Perg. Press. Oxford, 1963.
18. Ballio A., Serlupi-Crescenzi G. Nature, 180, 1203, 1957.
19. Biesold D., Balazs R. Biochem. J., 81, 9P, 1961.
20. Brody T. M., Bain J. A. J. Biol. Chem., 195, 685, 1952.
21. Chance B., Hollunger G., J. Biol. Chem., 236, 1—VI, 1545, 1961.
22. Chance B., Williams G. R. Advan. Enzymol., 17, 65, 1956.
23. Dewan J. G. Biochem. J., 32, 1378, 1938.
24. Frieden C. VI Internat. Congress of Biochem., Abstr. 9—24, p. 718, 1964.
25. Frieden C. J. Biol. Chem., 234, 4, 85, 1959.
26. Handler P., Klein J. R. J. Biol. Chem., 143, 49, 1942.
27. Honjo T., Ikeda M., Andreoli A. J., Nishizuka V., Hayashi O. Biochim. Biophys. Acta, 89, 549, 1964.
28. Jacobson K. B., Kaplan N. O. J. Biophys. Biochem. Cytol., 3, 31, 1957.
29. Klingenberg M., Häfen H. Biochem. Z., 337, 120, 1963.
30. Klingenberg M., Schollmeyer P. Biochem. Z., 333, 335, 1960.
31. Kornberg A., Lindberg O. J. J. Biol. Chem., 176, 665, 1948.
32. Lagnado J. B., Balazs R., Richter D. Biochem. J., 73, 18P, 1959.
33. Larner J., Jandorf B. J., Summerson W. H. J. Biol. Chem., 178, 373, 1949.
34. Lindberg O., Ernster L., Nature, 173, 1038, 1954.
35. Lovtrup S. J. Neurochem., 8, 243, 1961.
36. Lowry O. H., Rosebrough N. T., Farr A. L., Randall R. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
37. Mann D. J. G., Quastel J. H. Biochem. J., 35, 501, 1941.
38. Mildvan A. S., Greville G. D. Biochem. J., 82, 22P, 1962.
39. Olson J. A., Anfinsen C. B. J. Biol. Chem., 202, 841, 1953.
40. Roberts E. Inhibition in the Nervous System and γ -aminobutyric Acid, Ed. Roberts E., Perg. Press, N. Y., p. 144, 1960.
41. Roberts E., Frankel S. J. Biol. Chem., 190, 505, 1951.
42. Salganicoff L. De Robertis, Life Sciences, 85, 1963.
43. Skulachev V. P. Nature, 198, 444, 1963.
44. Somogyi J., Fonyo A., Vincze T. Acta Physiol. Acad. Sci. Hung., 21, 295, 1962.
45. Strecker H. Arch. Biochem. Biophys., 46, 128, 1953.
46. Van Kempen G. M. J., Van den Berg C. J., Van den Helm H. S., Veldstra H. J. Neurochem., 12, 7, 1965.
47. Windmüller H. G., Kaplan N. O. Biochem. Biophys. Acta, 56, 388, 1962.
48. Zatman L. J., Kaplan N. O., Colowick S. R. J. Biol. Chem., 200, 197, 1953.
49. Zatman L. J., Kaplan N. O., Colowick S. R., Ciott M. M. J. Biol. Chem., 209, 456, 1954.