

Э. М. МИКАЕЛЯН, В. Г. МХИТАРЯН

СДВИГИ В СОДЕРЖАНИИ ГЛУТАМАТА, АСПАРТАТА И АЛАНИНА В МОЗГУ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ХЛОРОПРЕНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

В предыдущих работах [5, 6] нами были описаны сдвиги в содержании аммиака, глутамина, амидных групп белка, а также изменения в активности глутаминсинтетазы и глутаминазы в мозгу белых крыс при хронической хлоропреновой интоксикации. Для интерпретации полученных данных необходимо было проследить, каким количественным изменениям подвергаются глутаминовая, аспарагиновая кислоты и аланин ввиду тесной связи их обмена с процессами образования и устранения аммиака.

Экспериментальная часть. Опыты ставили на белых крысах весом 150—200 г. Ежедневно в течение двух часов животных отравляли ингаляционно-динамическим методом, при расчетной концентрации хлоропрена в камере 4 мг/л. Сроки отравления—30, 60 и 90 дней.

По окончании срока отравления животных замораживали в жидком воздухе, из черепной коробки извлекали головной мозг, кору мозга растирали в среде жидкого воздуха в ступке до получения тонкого порошка. Затем при температуре 4° готовили 20% гомогенат в дистиллированной воде (из расчета 1 г мозга на 4 мл воды).

Экстракт из ткани получали путем осаждения белков гомогената равным объемом 0,04 М уксусной кислоты с последующим двухминутным нагреванием на кипящей водяной бане. Осадок центрифугировали в течение 15 мин при 3000 об/мин. Для удаления липонидов и других эфирорастворимых веществ к надосадочной жидкости прибавляли равный объем эфира и встряхивали в течение 2 мин. После обработки эфиром фильтрат сгущали выпариванием на водяной бане для удаления уксусной кислоты, сухой остаток растворяли в воде (1/5 исходного объема гомогената). Аминокислоты в экстракте определяли методом количественной хроматографии на бумаге по Боду и Гири [9, 10] в модификации Зайцевой, Тюленевой и Пасхиной [2, 7].

Применяли хроматографическую бумагу марки «Б» («быстрая») Ленинградской бумажной фабрики № 2. Для удаления катионов металлов бумагу предварительно обрабатывали раствором 8-оксихинолина.

В качестве хроматографической камеры использовали Венгерскую трехлодочную хроматографическую камеру для серийных исследований на 36—40 проб.

Полученные результаты и их обсуждение. Количество аминокислот выражали в мкмоль/г на 1 г свежей мозговой ткани.

Результаты опытов обработаны статистически, в таблицах приведены средние данные, статистическая достоверность и пределы колебаний.

Таблица 1

Содержание глутаминовой кислоты в мозгу белых крыс в разные сроки хлорпропенового отравления (количество глутамата выражено в мкмоль/г)

Контроль		О п ы т ы				
		30 дней	% уменьшения	60 дней	% увеличения	90 дней
$M \pm m$	$9,1 \pm 0,32$ ($n=11$)	$7,62 \pm 0,32$ ($n=11$)	17	$11,34 \pm 0,36$ ($n=11$)	24	$9,3 \pm 0,32$ ($n=14$)
Пределы колебаний, σ	$11,4-8$ 1,07	$11,4-7$ 1,38 $P=0,01$		$13,6-8,4$ 1,64 $P<0,001$		$11,6-7,4$ 1,23 $P>0,05$

Как видно из таблиц, количество глутаминовой кислоты у контрольных животных равно 9,1, аспарагиновой—5,46, аланина—2,66 мкмоль/г, что в основном совпадает со средними данными, приводимыми в литературе: по данным Кребса [13], количество глутаминовой кислоты в мозгу равно 9,9 мкмоль/г, Тоуера [18]—9,5—8,7 мкмоль/г, Хакинена [12]—9,34 мкмоль/г.

Содержание аспарагиновой кислоты в мозгу, определенное методом электрофореза, по данным ряда авторов, колеблется в пределах 2,77—3,8 мкмоль/г [11, 12].

Таблица 2

Содержание аспарагиновой кислоты в мозгу белых крыс в разные сроки хлорпропенового отравления (количество аспартата выражено в мкмоль/г)

Контроль		О п ы т ы					
		30 дней	% увеличения	60 дней	% увеличения	90 дней	% увеличения
$M \pm m$	$5,46 \pm 0,2$ ($n=11$)	$9,68 \pm 0,4$ ($n=12$)	77	$10,4 \pm 0,3$ ($n=11$)	90	$10,14 \pm 0,72$ ($n=11$)	85
Пределы колебаний, σ	$6,4-4,2$ 0,69	$11,4-6,6$ 1,4 $P<0,001$		$12,6-9$ 1,1 $P<0,001$		$13-5,4$ 2,39 $P<0,001$	

Сравнительно высокое ее содержание в наших опытах, по-видимому, следовало бы объяснить неполным разделением с серином и глицином, однако, поскольку аспартата в мозговой ткани намного больше, чем глицина и серина (более 2/3 общего количества этих кислот), неполное разделение вряд ли может повлиять на раскрытие закономерностей в изменениях изучаемых нами кислот.

Относительно содержания аланина в мозгу имеются противоречивые данные: 0,748 мкмоль/г—по Робертсу [16]; 1,7 мкмоль/г—по Сингху [17] и 3,83 мкмоль/г—по Хачатряну [8].

Наши исследования показали, что при тридцатидневном отравлении количество глутаминовой кислоты, по сравнению с контролем, понижается на 16% (табл. 1), с одновременным повышением содержания аспартата на 77% (табл. 2). При этом сроке отравления количество аланина остается без изменений (табл. 3).

Таблица 3

Содержание аланина в мозгу белых крыс в разные сроки хлоропренового отравления (количество аланина выражено в мкмоль/г)

	Контроль	О п ы т ы				
		30 дней	60 дней	% уве- личения	90 дней	% уве- личения
$M \pm m$	$2,71 \pm 0,6$ (n=11)	$2,54 \pm 0,11$ (n=11)	$6,2 \pm 0,22$ (n=11)	130	$3,27 \pm 0,22$ (n=14)	20
Пределы колеба- ний, σ	$3,0-2,25$ 0,205	$3,0-1,8$ 0,378 $P > 0,05$	$7,8-5,4$ 0,75 $P < 0,001$	.	$5,0-2,4$ 0,76 $P = 0,02$	

В работах других исследователей было показано, что при хлоропреновой интоксикации снижается поглощение мозгом глюкозы из крови [4], а также уменьшается количество эндогенной глюкозы в нем [1].

Это дало нам основание предполагать, что при хлоропреновом отравлении в результате недостатка в мозгу основного энергетического материала, каким является глюкоза, происходит усиленный распад глутаминовой кислоты.

Как известно, глутаминовая кислота в мозгу почти всецело окисляется в аспартат [3, 14] по следующей реакции:

1. глутамат + оксалоацетат → аспартат + α -кетоглутарат,
2. α -кетоглутарат окисляется в цикле Кребса.

Следовательно, распад глутамата приведет к уменьшению его количества и к увеличению аспартата, что и наблюдается в наших опытах.

Некоторое несоответствие в количественных изменениях этих кислот — прирост аспартата значительно больше убыли глутамата — вероятно, объясняется одновременным усилением распада гамма-аминомасляной кислоты, также приводящего к образованию аспартата [3].

Удлинение срока отравления до 60 дней меняет характер количественных изменений изучаемых аминокислот. Количество глутаминовой кислоты увеличивается на 21, аспартата — на 90 и аланина — на 129%. Одновременно, как было показано в наших предыдущих работах [5, 6], при этом сроке отравления наблюдается увеличение свободного аммиака в 5,6 раза, вызывающее нарушение цикла Кребса [14], а следовательно, и связанного с ним окисления глутамата. В результате, аминокислоты включаются в процессы устранения аммиака путем усиления процес-

сов аминирования α -кетоглутаровой кислоты, с последующим переаминованием образовавшегося глутамата.

Мы предполагаем, что энергия, необходимая для аминирования α -кетоглутарата, образуется при распаде амидной связи в белках.

Дальнейшее удлинение срока отравления до 90 дней изменяет лишь интенсивность количественных сдвигов аминокислот: уровень глутамата приближается к норме, количество аспартата и аланина остается соответственно увеличенным в 1,89 раза и 1,2 раза.

Следовательно, аминокислоты опять-таки участвуют в процессе устранения аммиака, но с меньшей интенсивностью. Это объясняется некоторым восстановлением при этом сроке отравления нормальных процессов устранения и связывания аммиака: уровень аммиака заметно снижается, восстанавливается активность глутаминсинтетазы и глутаминазы, количество амидных групп белка приближается к контрольным.

Ереванский медицинский институт

Поступило 28.II 1969 г.

Է. Մ. ՄԻԿԱԵԼՅԱՆ, Վ. Գ. ՄԽԻՏԱՐՅԱՆ

ՔԼՈՐՈՊՐԵՆԱՅԻՆ ԽՐՈՆԻԿԱԿԱՆ ԹՈՒՆԱՎՈՐՄԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԳԼՈՒԴԵՂԻ ԳԼՈՒՏԱՄԻՆԻ, ԱՍՊԱՐՏԱՏԻ ՈՒ ԱԼԱՆԻՆԻ
ՔԱՆԱԿԱԿԱՆ ՏԵՂԱՇԱՐԺԵՐԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Քլորոպրենային խրոնիկական ինհալացիոն թունավորումը (օրական 2 ժամ՝ 4 մգ/լ) առնետների գլխուղեղում առաջացնում է ազատ ամինաթթուների քանակական տեղաշարժեր: Թունավորման 30-րդ օրը գլուտամինի քանակը պակասում է 16, իսկ ասպարտատի քանակն ավելանում է 77%-ով: Թունավորման տեղությունը երկարացնելու դեպքում (60 օր) ասպարտատի քանակն է՛լ ավելի է մեծանում (90%-ով), իսկ գլուտամինինը բարձրանում է 24%-ով, ալանինինը՝ 130%-ով:

Թունավորման 90-րդ օրը գլուտամինի քանակը նորմալանում է, իսկ ասպարտատինը և ալանինինը մնում են կոնտրոլ թվերից բարձր, համապատասխանաբար 85 և 20%:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Агаджанов М. И. Изв. АН АрмССР, биол. науки, XVIII, 11, 1965.
2. Зайцева Г., Тюленева Н. М. Лаб. дело, 3, 24, 1958.
3. Кометиани П. А. Тезисы докл. конф. по обмену аминокислот, 1968.
4. Мхейян Э. Е., Бадалян Е. Г. Изв. АН АрмССР, биол. и сельскохозяйств. науки, 12, 22, 1959.
5. Мхитарян В. Г., Микаелян Э. М. Тезисы докл. IV Всесоюзн. конф. по биохимии нервной системы, 76, 1966.
6. Микаелян Э. М., Мхитарян В. Г. Биол. журн. Армении, XX, 4, 9, 1967.
7. Пасхина Т. С. Биохимия, 19, 702, 1954.
8. Хачатрян Г. С. Докт. диссер. Ереван, 1964.

9. Bode F. Biochem. Z., 326, 433, 1955.
10. Giri K. V. et al. Indian Inst. Science, 35, 145, 1953.
11. Gonnard F., Fenard S. J. Neurochem. 9, 135, 1962.
12. Hokkinen H. M., Kilonen E. J. Neurochem. 10, 489, 1963.
13. Krebs H. A., Eggleston L. V., Hems K. Biochem. J. 44, 159, 1949.
14. Krebs H. A., Bellamy D. Biochem. J. 75, 523, 1960.
15. McKhann G. M., Tower D. B. Amer. J. Physiol. 200, 420, 1961.
16. Roberts E. J. Neurochem. 10, 931, 1963.
17. Singh S. J., Malhotra G. L. J. Neurochem. 9, 585, 1962.
18. Tower D. B. Biochem. of the central Nervous System. Edit Brücke. Perg. Press, Inter. congr. of Biochem. 3, 1958.