

Б. А. КАЗАРЯН, Э. Х. САФАРЯН, Р. М. НИАЗЯН

СДВИГИ В СОДЕРЖАНИИ НЕКОТОРЫХ АМИНОКИСЛОТ (АРТЕРИО-ВЕНОЗНАЯ РАЗНИЦА) У СОБАК И В ЦЕЛОМ МОЗГУ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ГАММА- АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ

В предыдущих наших сообщениях [1, 4] было показано, что внутрикаротидное введение гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) приводит к интенсивному и кратковременному выделению из мозга с венозной кровью как самой ГАМК, так и определенного нингидринположительного комплексного соединения. Было установлено, что это соединение состоит из 4-х аминокислот—тирозина, треонина, серина и глицина,—которые нестойко связаны между собой. Исходя из этого представляет интерес изучение артерио-венозной разницы содержания ряда аминокислот в первые минуты после внутрикаротидного введения ГАМК у собак, а также сдвиги тирозина, треонина, серина и глицина в целом мозгу крыс после внутрибрюшинного введения ГАМК.

Методика. Опыты были поставлены на собаках-самцах весом 20—25 кг. Их предварительно оперировали: общую сонную артерию выводили в кожный валик и перевязывали все ответвления наружной яремной вены, кроме заднелицевой ветви, имеющей непосредственное сообщение с поперечными синусами мозга [6]. После выздоровления животных и приучения их к условиям экспериментальной обстановки приступали к проведению исследований. Собак содержали на полноценном пищевом рационе и кормили только после опыта. Кровь в количестве 2-х мл брали одновременно из общей сонной артерии и наружной яремной вены до опыта и через 1 и 2 мин после введения ГАМК. Белки осаждали этанолом в течение одного часа и центрифугировали (5000 об/мин, 20 мин). Надосадочную жидкость выпаривали, растворяли в шести мл воды и вновь центрифугировали (10 000 об/мин, 20 мин). Надосадочную жидкость вновь выпаривали, остаток растворяли в 0,4 мл воды и 10 мкл наносили на полоску электрофоретической бумаги.

Вторая серия опытов была проведена на крысах-самцах весом 130—150 г. Внутрибрюшинно вводили 10 мг ГАМК на живой вес животного, через 2 и 5 мин животных обезглавливали и в целом мозгу методом бумажной хроматографии определяли количество тирозина, треонина, серина и глицина.

Электрофорез проводили по методике Гроссмана и сотр. [8]. Как известно, по данной методике можно определить дикарбоновые аминокислоты (двигаются в сторону анода) и ГАМК (двигается в сторону катода), в ту же сторону, что и ГАМК мигрирует группа диаминокислот в составе орнитина, лизина, гистидина, аргинина. Остальные аминокислоты, проявляя электроинертность, располагаются на линии старта. После введения ГАМК в пробах крови недалеко от линии старта в сторону катода располагается также и ранее описанное нами [4] нингидринположительное комплексное соединение. Одну из параллельных бумаг после электрофореза окрашивали, а с неокра-

шенных полосок вырезали участок с нейтральными аминокислотами для дальнейшей хроматографии. Для достижения лучшего разделения аминокислот мы применяли комбинированный метод электрофореза с хроматографией.

Срезанные кусочки непроявленных электрофореграмм пришивали по краям тонкой хирургической шелковой ниткой к линии старта хроматографической бумаги марки FN-1 (ГДР). В качестве буфера применяли бутанол—уксусную кислоту—воду в соотношении 4:1:5. Разгонку проводили дважды с высушиванием бумаг проточным воздухом после каждой разгонки. Таким же методом наносились свидетели аминокислот, которых использовали как для идентификации аминокислот, так и составления калибровочной кривой. Полоски бумаг после электрофореза и хроматографии окрашивали 0,5% раствором нингидрина в ацетоне, высушивали в вытяжном шкафу и помещали на 20 мин в термостат при 70—80°, затем производили элюацию в темноте в течение часа в 5 мл 75% этанола, насыщенного CuSO_4 . Количество аминокислот определяли фотометрически.

Результаты исследований и их обсуждение. Данные контрольных опытов по содержанию аминокислот в артериальной и венозной крови у собак, приведенные в табл. 1, показывают, что в норме мозговая ткань, как и следовало ожидать, проявляет определенную активность в отношении захвата аминокислот из артериальной крови.

Таблица 1

Артерио-венозная разница содержания некоторых аминокислот (мг%)
после внутрикаротидного введения ГАМК у собак

Аминокислоты	Артериальная кровь			Венозная кровь		
	контроль	после введения ГАМК через		контроль	после введения ГАМК через	
		1 мин	2 мин		1 мин	2 мин
Цистин с цистеином	1,2 ± 0,7	0,9 ± 0,3	1,1 ± 0,4	0,8 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,5 ± 0,2
Глутамин	6,7 ± 1,2	6,9 ± 1,0	6,5 ± 0,7	7,1 ± 1,3	9,8 ± 1,1	10,7 ± 0,8
Глутаминовая к-та	3,1 ± 0,5	3,0 ± 0,3	2,8 ± 0,5	2,6 ± 0,4	1,8 ± 0,8	2,0 ± 0,5
Аспарагиновая к-та	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1
Серин	0,61 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,65 ± 0,2	1,2 ± 0,3	1,1 ± 0,4
Глицин	1,8 ± 0,4	1,9 ± 0,2	2,0 ± 0,2	0,81 ± 0,2	1,1 ± 0,3	0,9 ± 0,2
Треонин	1,46 ± 0,3	1,2 ± 0,5	1,0 ± 0,4	1,42 ± 0,5	1,77 ± 0,3	1,7 ± 0,3
Аланин	2,8 ± 0,7	2,9 ± 0,5	2,6 ± 0,2	2,1 ± 0,1	3,63 ± 0,8	4,7 ± 1,1
Тирозин	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,55 ± 0,2	0,56 ± 0,1	0,51 ± 0,1
Валин	2,5 ± 0,3	2,2 ± 0,3	2,1 ± 0,2	1,8 ± 0,4	1,8 ± 0,2	1,7 ± 0,2
Фенилаланин	1,5 ± 0,4	1,4 ± 0,2	1,1 ± 0,3	1,0 ± 0,3	0,8 ± 0,2	0,5 ± 0,1
Лейцин и изолейцин	1,3 ± 0,2	1,4 ± 0,3	1,6 ± 0,5	1,7 ± 0,4	1,8 ± 0,5	1,7 ± 0,3

Внутрикаротидное введение ГАМК (5 мг/кг веса собаки) не вызывает в изучаемых промежутках времени существенных сдвигов в количестве аминокислот в артериальной крови. Иная картина наблюдается в отношении содержания аминокислот в венозной крови, отекающей от мозга. Значительно возрастает уровень глутамина: если в норме он равен 7,1 мг%, то через 1 и 2 мин после введения ГАМК возрастает до 9,8 и 10,7 мг% соответственно. Количество серина в контрольной пробе 0,65 мг%, а через 1 и 2 мин после введения ГАМК увеличивается почти в два раза—3,63 и 4,7 мг% соответственно. В отношении некоторых других аминокислот наблюдается обратная картина.

ГАМК усиливает захват мозгом цистина с цистеином. В контроле их содержание составляет 0,8 мг%, а через 1 и 2 мин после введения ГАМК понижается соответственно до 0,6 и 0,5 мг%. Глутаминовой кислоты в контроле 2,6 мг%, через 1 и 2 мин после введения ГАМК—1,8—2,0 мг%. Еще заметнее уменьшается содержание фенилаланина: если в контроле его количество составляет 1,0 мг%, то через 1 и 2 мин после введения ГАМК оно снижается до 0,8—0,5 мг%.

Эллиотт и сотр. [9, 10], а также наши исследования [2, 5], показали, что в мозговой ткани, наряду с ГАМК, другие аминокислоты также представлены в двух формах — связанной и свободной. Исходя из этого, настоящие исследования проводились по методике Эллиотта и сотр. с определением содержания аминокислот как в связанном, так и в свободном видах.

Таблица 2

Сдвиги содержания некоторых аминокислот (мг%) в целом мозгу крыс после внутрибрюшинного введения ГАМК

Аминокислоты	До введения			Через 2 мин после введения ГАМК			Через 5 мин после введения ГАМК		
	свободная	связанная	сумма	свободная	связанная	сумма	свободная	связанная	сумма
Тирозин	1,07± 0,4	0,3± 0,1	1,37± 0,3	1,6± 0,2	0,5± 0,2	2,1± 0,4	1,8± 0,6	0,6± 0,2	2,4± 0,5
Треонин	5,2± 0,3	1,5± 0,3	6,7± 1,0	6,8± 0,3	1,6± 0,4	8,4± 0,6	7,3± 0,8	1,8± 0,5	9,1± 1,1
Серин	8,4± 0,6	3,8± 0,2	12,2± 1,4	9,8± 0,5	3,7± 0,8	13,5± 1,1	10,4± 1,0	3,4± 0,7	13,8± 0,8
Глицин	8,6± 0,5	2,1± 0,4	10,7± 1,5	8,8± 0,4	2,5± 0,7	11,3± 1,4	9,0± 0,7	2,7± 0,4	11,7± 0,7

Приведенные в табл. 2 данные свидетельствуют о том, что внутрибрюшинное введение белым крысам ГАМК приводит к заметному увеличению количества тирозина: в контроле—1,37 мг%, на 2-ой и 5-ой мин после введения ГАМК—соответственно—2,1 и 2,4 мг%; треонина—6,8 мг% (контроль), на 2-ой и 5-ой мин—8,4 и 9,1 мг% соответственно, серина—12,2 мг% (контроль)—через 2 и 5 мин после введения ГАМК 13,5 и 13,8 мг% соответственно, глицина в контроле—10,7 мг%, а через 2 и 5 мин после введения ГАМК—11,3 и 11,7 мг% соответственно. Интересно, что увеличение количества этих аминокислот протекает главным образом за счет их свободной формы.

Полученные данные дают основание предполагать, что образование нингидринположительного комплексного соединения в мозгу идет за счет свободной формы этих аминокислот.

Полученные данные также свидетельствуют о том, что внутрикаротидное введение ГАМК собакам приводит не только к резкому увеличе-

нию ее содержания (в венозной крови в первые минуты после введения ГАМК), что было установлено нами ранее [1], но и к заметному увеличению количества глутамин, серина, аланина и к уменьшению цистина с цистеином, глутаминовой кислоты и фенилаланина в оттекающей от мозга крови.

Исходя из наших данных, можно считать, что введенная ГАМК способствует амидированию глутаминовой кислоты, вследствие чего увеличивается количество глутамин. Это согласуется с исследованиями Бунятяна и сотр. [3, 7], показавших, что в опытах *in vitro* ГАМК в присутствии глюкозы способствует накоплению глутамин и связыванию аммиака в срезах коры мозга. Что же касается увеличения количества аланина, то надо полагать, что часть введенной ГАМК трансаминируется с пировиноградной кислотой. Наличие этого процесса в мозговой ткани не вызывает сомнений. Полученные нами данные (неопубликованные) свидетельствуют, что в опытах *in vitro* ГАМК стимулирует превращение фенилаланина в тирозин, повышая активность фенилаланингидроксилазы. Не исключена возможность, что ГАМК *in vivo* стимулирует превращение фенилаланина в тирозин, тем самым снижая содержание фенилаланина в венозной крови. В отношении выяснения повышения количества серина и уменьшения цистина с цистеином под действием ГАМК требуются дополнительные исследования.

Нами было показано [5], что внутрибрюшинное введение ГАМК белым крысам приводит к уменьшению количества ее в коре мозга и увеличению ее содержания в области гипоталамуса. Исходя из этих данных, представляло интерес изучить сдвиги содержания других аминокислот в мозговой ткани и в первую очередь тех аминокислот, которые входят в состав указанного выше комплексного соединения.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют об определенной роли ГАМК в обмене ряда аминокислот в мозговой ткани. Некоторые стороны механизма этого действия будут приведены в следующем сообщении.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 10.VIII 1969 г.

Р. Ա. ՂԱԶԱՐՅԱՆ, Է. Խ. ՍԱՖԱՐՅԱՆ, Ր. Մ. ՆԻՅԱԶՅԱՆ

ՈՒՂԵՂԸ ՆԵՐՀՈՍՈՂ ԵՎ ՆՐԱՆԻՅ ԱՐՏԱՀՈՍՈՂ ԱՐՅԱՆ ՄԵՋ ՄԻ ՇԱՐՔ
ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ՏԵՂԱՇԱՐԺԵՐԸ (ԱՐՏԵՐԻՈ-ՎԵՆՈՋ ՏԱՐՔԵՐՈՒԹՅՈՒՆԸ)
ՇՆԵՐԻ ՄՈՏ ԵՎ ՍՊԵՏԱԿ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԱՄԲՈՂՋԱԿԱՆ ՈՒՂԵՂՈՒՄ ԳԱՄՄԱ-
ԱՄԻՆԱԿԱՐԱԳԱԹՔՎԻ ՆԵՐԱՐԿՈՒՄԻՅ ՀԵՏՈ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Մեր կողմից ցույց է տրված, որ զամմա-ամինակարագաթթվի (ԳԱԿԹ) սպիտակ առնետների ներորովայնային ներարկումը բերում է ուղեղի կեղևում ԳԱԿԹ-ի քանակի իջեցման, իսկ հիպոթալամիկ շրջանում՝ նրա բարձրացման:

Շների մոտ ԳԱԿԹ-ի ներգարկերակային ներարկումը նպաստում է ուղեղից, վենոզ արյան հետ, արտահոսելու նինհիդրին դրական ոչ կայուն մի միացության, որը բաղկացած է որոշակի շորս ամինաթթուներից (թիրոզին, տրեոնին, սերին և գլիցին)։

Վերոհիշյալ փաստերը հիմք հանդիսացան մեղ ստուգելու շների ուղեղը ներհոսող և նրանից արտահոսող արյան մեջ մի շարք ամինաթթուների տեղաշարժերը ԳԱԿԹ-ի ներգարկերակային ներարկումից հետո առաջին ռոպեների ընթացքում։

Ցույց է տրված, որ ԳԱԿԹ-ը բերում է գլուտամինի, սերինի և ալանինի քանակի ավելացման և ցիստին-ցիստեինի, գլուտամինաթթվի և ֆենիլալանինի քանակի անկման ուղեղից արտահոսող վենոզ արյան մեջ։ ԳԱԿԹ-ի սպիտակ առնետների ներորոպայնային ներարկումը բերում է ամբողջական ուղեղում թիրոզինի, տրեոնինի, սերինի և գլիցինի քանակի բարձրացման, գլխավորապես ի հաշիվ նրանց ազատ ձևի։

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бунятян Г. Х., Казарян Б. А., Карагезян К. Г., Гулян Э. А. ДАН АрмССР, 40, 289, 1965.
2. Бунятян Г. Х., Казарян Б. А. Биолог. журн. Армении, 20, 11, 1967.
3. Бунятян Г. Х. Ж. Всесоюзн. химического об-ва им. Д. И. Менделеева, 9, 412, 1964.
4. Казарян Б. А., Гулян Э. А. Украинский биохим. ж., 40, 553, 1968.
5. Казарян Б. А., Гулян Э. А. Вопросы биохимии мозга, Изд. АН АрмССР, 3, 83, 1967.
6. Кедров А. А., Науменко А. И., Дегтярева З. Я. Бюлл. эксп. биол. и мед., 9, 10, 1954.
7. Buniatian H. Ch. J. Neurochem., 10, 461, 1963.
8. Grossman W., Haning E., Plocke M. Z.phis. chem., 299, 258, 1955.
9. Elliott K. A. C., van Gelder N. M. J. Neurochem., 10, 479, 1963.
10. Elliott K. A. C., Tariq Khan T., Bilodeu F., Lovell R. A. Canad. J. Biochem., 43, 407, 1965.