

Э. М. МИКАЕЛЯН, В. Г. МХИТАРЯН

СДВИГИ В СОДЕРЖАНИИ АММИАКА, ГЛУТАМИНА И АМИДНЫХ ГРУПП БЕЛКА (ЛЕГКО- И ТРУДНОГИДРОЛИЗУЕМЫЕ) В МОЗГУ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ХЛОРОПРЕНОВОМ ОТРАВЛЕНИИ

Экспериментальными и клиническими исследованиями при хронической хлоропреновой интоксикации установлено нарушение функции нервной системы. Функциональные расстройства нервной системы у рабочих, занятых на производстве хлоропренового каучука, проявляются в виде вегетоневрозов, неврастений, а также угнетения корковой и подкорковой вегетотрофической функции.

В последние годы изучены также углеводно-энергетический, липидный и азотистый обмены в мозгу при хлоропреновом отравлении и выявлены некоторые биохимические сдвиги, ответственные за нарушение нервной деятельности. Учитывая, что процессы образования и устранения аммиака в мозгу являются частью сложных биохимических превращений, лежащих в основе химизма нервной деятельности, представляло значительный интерес изучить отдельные стороны обмена аммиака в мозговой ткани при хлоропреновом отравлении.

Методика. Опыты ставили на белых крысах весом 150—200 г. Животных затравляли ингаляционно-динамическим методом, ежедневно в течение 2 час., при расчетной концентрации хлоропрена в камере 4 мг/л. Сроки затравки: 30, 60 и 90 дней.

По окончании срока затравки их замораживали погружением в жидкий воздух. Головной мозг извлекали из черепной коробки и растирали в ступке в среде жидкого воздуха до тонкого порошка. К навеске мозга прибавляли двойной обмен 10% трихлоруксусной кислоты и оставляли на 30 мин при температуре 0—4°C при постоянном помешивании. В надосадочной жидкости после центрифугирования определяли свободный аммиак методом микродиффузионной перегонки Зелигсона [15] в видоизменении Силаковой и сотр. [10], глутамин — по методу Силаковой [10], а в осадке — амидные группы белка после 10 мин гидролиза в 1N H₂SO₄ (легкогидролизуемые) и после 2-часового — в 1N H₂SO₄ (трудногидролизуемые).

Результаты исследования и их обсуждение. Полученные результаты показали, что при хроническом хлоропреновом отравлении содержание свободного аммиака в мозгу значительно возрастает, а глутамина наоборот, уменьшается. Так, из данных табл. 1 видно, что при тридцатидневной затравке содержание свободного аммиака резко возрастает и составляет 2,31 мг%, что по сравнению с контролем больше в 5,5 раза. При тех же условиях опыта (табл. 2) количество глутамина, наоборот, уменьшается и составляет 3,47 мг%, в 2 раза ниже контроля.

Таблица 1

Содержание свободного аммиака в мозгу белых крыс после различных сроков хлоропренового отравления (аммиак выражен в мг % азота на сырой вес ткани)

	Контроль	О п ы т ы					
		30 дней	увели- чение	60 дней	увели- чение	90 дней	увели- чение
$M \pm m$	$0,42 \pm 0,049$ (n=13)	$2,31 \pm 0,14$ (n=12)	в 5,5 раза	$2,34 \pm 0,1$ (n=10)	в 5,6 раза	$1,47 \pm 0,28$ (n=12)	в 3,5 раза
Пределы колебаний	0,75—0,25	3—1,5		2,9—1,9		2,75—0,5	
σ	0,172	0,479 P<0,001		0,31 P<0,001		0,96 P<0,001	

Таблица 2

Изменения в содержании глутамина в мозгу белых крыс в различные сроки хлоропренового отравления (глутамин выражен в мг % азота на сырой вес ткани)

	Контроль	О п ы т ы					
		30 дней	умень- шение	60 дней	умень- шение	90 дней	умень- шение
$M \pm m$	$7,05 \pm 0,35$ (n=15)	$3,47 \pm 0,2$ (n=12)	в 2 раза	$2,39 \pm 0,18$ (n=10)	в 2,9 раза	$4,45 \pm 0,46$ (n=12)	в 1,59 раза
Пределы колебаний	10,9—6,0	4,5—2,25		3,3—1,5		7,75—2,25	
σ	1,31	0,92 P<0,001		0,56 P<0,001		1,54 P<0,001	

Удлинение сроков затравки животных до 60 дней приводит к еще большему накоплению аммиака и снижению количества глутамина в мозгу. Содержание аммиака в этих условиях опыта достигает 2,34 мг %, больше нормы в 5,6 раза (табл. 1), в то время как содержание глутамина (табл. 2) составляет 2,39 мг % — по сравнению с контролем меньше в 2,9 раза.

При 90-дневном отравлении содержание аммиака уже несколько уменьшается по сравнению с предыдущим сроком отравления, но все же остается повышенным, и превышает контрольный уровень в 3,5 раза (табл. 1). При этих условиях опыта содержание глутамина, хотя и значительно возрастает и составляет 4,45 мг %, однако по отношению к контролю отстает в 1,59 раз.

Известно, что в условиях нормальной нервной деятельности система глутаминовая кислота—глутамин выступает как устранитель аммиака, причем процессы синтеза глутамина преобладают над его распадом [3, 5, 16].

Из сказанного можно допустить, что хлоропреновая интоксикация вызывает нарушение нормальных процессов устранения и преобразо-

вания аммиака либо в сторону угнетения синтеза глутамина, либо усиления его распада.

Для разрешения этого вопроса мы изучили активность глутаминазы и глутаминсинтетазы при хлоропреновом отравлении и установили, что активность глутаминсинтетазы значительно понижается, особенно при сроке затравки в 60 дней [8].

Исходя из имеющегося представления о существенной роли амидных групп белка в процессах аммиакообразования в нервной ткани [3, 5, 18] была изучена также их динамика при хлоропреновой интоксикации. Полученные результаты показали, что содержание легкогидролизуемых амидных групп белка (табл. 3) почти не претерпевает никаких

Таблица 3

Изменения в содержании легкогидролизуемых амидных групп белка в мозгу белых крыс в разные сроки хлоропренового отравления (амидный азот в мг % азота на сырой вес ткани)

	Контроль	О п ы т ы			
		30 дней	60 дней	% убыли	90 дней
$M \pm m$	$18,69 \pm 0,76$ (n=15)	$18,8 \pm 0,69$ (n=12)	$16,8 \pm 0,59$ (n=10)	11	$17,04 \pm 1,74$ (n=12)
Пределы колебаний	25,4—15,25	24,0—16,0	20,0—14,2		28,0—8,25
σ	2,95	2,42 P>0,05	1,88 P>0,05		6,05 P>0,05

изменений, в то время как трудногидролизуемые амидные группы (табл. 4) при сроке затравки в 30 дней увеличиваются на 50%, в 60 дней—уменьшаются на 33%, и к 90-му дню отравления их количество приближается к норме.

Таблица 4

Изменения в содержании трудногидролизуемых амидных групп белка в мозгу белых крыс в разные сроки хлоропренового отравления (амидный азот в мг % азота на сырой вес ткани)

	Контроль	О п ы т ы				
		30 дней	% увеличения	60 дней	% уменьшения	90 дней
$M \pm m$	$49,1 \pm 2,5$ (n=14)	$73,4 \pm 4,3$ (n=12)	50%	$32,9 \pm 0,6$ (n=10)	33%	$50,04 \pm 2,9$ (n=12)
Пределы колебаний	70—37,9	95,0—49,0		36,0—30,0		70,0—33,75
σ	9,4	14,5 P<0,001		1,9 P<0,001		2,9 P>0,05

Балансовые расчеты образования и устранения аммиака при сроке затравки в 30 дней показывают, что за счет нарушения синтеза глута-

мина высвобождается 3,58 мг% аммиака и из неизвестных источников— 22,6 мг%. Из этого количества 24,3 мг% его устраняется трудногидролизруемыми группами белка, т. е. на этой стадии отравления последние выступают как устранители аммиака.

Таким образом, повышение степени амидирования белков является защитной реакцией организма на токсическое воздействие столь высоких концентраций аммиака. Так, по данным Рихтера и Даусона [14], повышение концентрации аммиака до 8 мг% в мозгу приводит к тяжелым судорогам.

Такое увеличение степени амидирования белков приводит к изменению пространственной конфигурации их макромолекул и способу контакта между ними, к изменению их биологической и биохимической активности. Это неминуемо влечет к сдвигам в обмене веществ, а следовательно, и в соответствующих физиологических функциях [6].

Какова же природа неизвестных источников, принимающих участие в аммиакообразовании, пока трудно сказать. Но учитывая, что при хроническом хлоропреновом отравлении в мозгу создается гипоксическое состояние и имеет место некоторое нарушение сопряжения процессов окислительного фосфорилирования [1, 7], можно предположить, что часть аммиака образуется за счет усиления деаминарования адениловой системы.

Однако, по данным Вайл-Малгерба [17], при распаде всех имеющихся в головном мозгу запасов адениловой кислоты образуется только 3 мг% аммиака, а в наших опытах за счет неизвестных источников образуется 22,61 мг%. Следовательно, доля адениловой кислоты в них незначительна.

Правда, участие адениловой системы в продукции аммиака в нервной ткани несколько увеличивается, если учесть, что она может реаминироваться за счет аминных групп глутаминовой и гамма-аминомасляной кислот, то есть в данном случае «адениловая система играет роль насоса, перекачивающего аминную группу аминокислот на аммиак» [5].

Может быть при хлоропреновом отравлении увеличивается в головном мозгу протеолиз, участие которого в аммиакообразовании как основного источника, описано Вайл-Малгербом [18].

Аминоазот, образующийся при протеолизе свободных аминокислот, высвобождается в виде аммиака через адениловую систему.

На основании работ Бунятына и сотр. [2] можно предположить, что при хлоропреновом отравлении в результате нарушения окислительных процессов в мозгу усиленно деаминируется НАД. А это в какой-то степени также увеличивает уровень аммиака.

Подсчеты степени участия отдельных компонентов в процессе аммиакообразования при сроке отравления в 60 дней показывают, что увеличение свободного аммиака происходит на 1,92 мг%, тогда как в результате нарушения синтеза глутамината должно было освободиться **4,65 мг%** аммиака и за счет деаминации амидных групп белка— **16,2 мг%**. Это обстоятельство навело нас на мысль о возможном усилии

нии при этом каких-то других синтетических процессов устранения аммиака. Но ввиду нарушения процессов окислительного фосфорилирования [1] в мозгу, по всей вероятности, создается определенный дефицит макроэргов, поэтому для синтетических процессов устранения аммиака используется энергия амидной связи. Амидная связь относительно богата энергией, при ее распаде образуется 5840 кал/мол [12].

Это наше предположение согласуется с мнением Вайл-Малгерба о том, что в анаэробных условиях часть амидных групп белка тратится на неизвестные синтетические процессы, не связанные с продукцией аммиака [19].

Нами было изучено содержание аланина, глутаминовой и аспарагиновой кислот в мозгу при хлоропреновом отравлении [9]. Причем мы получили увеличение их количества при сроке отравления в 60 дней; аланина—в 2,5 раза, глутаминовой кислоты—в 1,3 раза и аспарагиновой—в 1,9 раза по сравнению с контролем. Это дало возможность предположить, что при сроке отравления в 60 дней усиливается, по-видимому, устранение аммиака путем реаминирования α -кетоглутарата с последующим переаминированием образующейся глутаминовой кислоты. В свою очередь усиление реаминирования α -кетоглутарата приводит к нарушению окислительных процессов в мозгу в результате уменьшения резервов ЩУК [11].

Кроме того, увеличение концентрации аммиака может привести к ингибированию окислительного декарбоксилирования α -кетоглутаровой кислоты, и особенно пировиноградной [13].

Агаджанов [1] получил резкое увеличение количества пировиноградной кислоты в мозгу животных, подвергнутых хроническому хлоропреновому отравлению.

Вопрос о первичности нарушений углеводно-фосфорного обмена и процессов аммиакообразования остается пока еще спорным, хотя Гаевская [4], например, считает, что увеличение аммиака в мозгу при разного рода воздействиях является следствием нарушения нормального течения углеводно-фосфорного обмена.

Результаты исследования содержания аммиака, глутамина и амидных групп белка после 90 дней затравки показывают, что происходит увеличение аммиака на 1,05 мг%, а за счет нарушения синтеза глутамин образуется 2,6 мг% аммиака, амидные же группы белка почти не принимают участия как в процессах аммиакообразования, так и устранения. Следовательно, опять-таки аммиак устраняется через α -кетоглутарат. Но вследствие меньшего количества аммиака интенсивность этого процесса должна быть меньше по сравнению со сроком затравки в 60 дней. Это подтверждается нашими данными о содержании количества аланина, глутамина и аспарагиновой кислот при сроке затравки в 90 дней — аланин увеличивается в 1,2 раза, глутаминовая кислота приближается к норме, аспарагиновая—увеличивается в 1,9 раза.

Изучая динамику нарушения процессов устранения и образования аммиака в зависимости от срока отравления, приходим к заключению,

что к третьему месяцу затравки наблюдается некоторое приспособление организма к воздействию хлоропрена.

Сдвиги, имеющие место в первом месяце затравки, в обмене аммиака усиливаются ко 2-му месяцу и заметно сглаживаются к третьему.

Ереванский государственный
медицинский институт

Поступило 18.II 1969 г.

Է. Մ. ՄԻՔԱԵԼՅԱՆ, Վ. Գ. ՄԽԻՏԱՐՅԱՆ

**ՔԼՈՐՈՊՐԵՆԱՅԻՆ ՔՐՈՆԻԿ ԹՈՒՆԱՎՈՐՄԱՆ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ
ԳԼԽՈՒՂԵՂԻ ԱՄԻԱԿԻ, ԳԼՈՒՏԱՄԻՆԻ ԵՎ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑԻ ԱՄԻԳԱՅԻՆ
ԽՄՔԵՐԻ ՔԱՆԱԿԱԿԱՆ ՏԵՂԱՇԱՐԺԵՐԻ ՎՐԱ**

Ա. մ. փ. n. փ. n. i. մ

Քլորոպրենային քրոնիկ ինհալացիոն թունավորումը (օրական 2 ժամ 4 մգ/լ քլորոպրեն) առաջացնում է առնետների գլխուղեղում ամիակի փոխանակության խանգարում, որի հետևանքով նրա քանակը ուղեղում շատանում է. 30 օր թունավորման դեպքում ամիակի և սպիտակուցի ամիդային խմբերի քանակը շատանում է, իսկ գլուտամինի քանակը՝ պակասում: Թունավորման տևողությունը երկարացնելու դեպքում (60 օր) ամիակի և գլուտամինի քանաքական տեղաշարժերը ավելի են խորանում, փոփոխվում է նաև սպիտակուցի ամիդային խմբերի քանակը—վերջիններս ենթարկվում են դեամիդացման:

Թունավորման 90-րդ օրը վերոհիշյալ տեղաշարժերը նվազում են, ամիդոազոտի քանակը մոտենում է կոնտրոլին: Ամիակի և գլուտամինի քանակը թեպետ շատանում է, սակայն ետ է մնում նորմայից:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Агаджанов М. И. Биол. журнал Армении, XIX, 9, 25, 1966.
2. Бунятян Г. X., Мовсесян С. Г. Тезисы докл. IV Всесоюзной конф. по биохимии нервной системы. Тарту, 20, 1966.
3. Врба Р. Успехи совр. биологии. 41(3), 321, 1956.
4. Гаевская М. С., Носова Е. А. В сб.: Третья Всесоюзная конф. по биохимии нервной системы. Ереван, 421, 1963.
5. Кометиани П. А., Клейн Е. Э. и др. В сб.: Вопросы биохимии нервной и мышечной системы, Тбилиси, 45, 1965.
6. Мартинсон Э. Э., Тяхепыльд Л. Я. Тр. I-ой биохим. конф. Прибалт. республик и Белоруссии. Тарту, 26, 1961.
7. Мхитарян В. Г. В сб.: Вопросы биохимии. Изд. АН АрмССР, 1, 135, 1960.
8. Микаелян Э. М., Мхитарян В. Г. Биол. журнал Армении, XX, 4, 9, 1966.
9. Микаелян Э. М., Мхитарян В. Г. Биол. журнал Армении, XXII, 11, 43, 1969.
10. Силакова А. И., Труш Г. П., Яковлева А. Вопросы мед. химии, 8, 538, 1962.
11. Bessman S. P. Chemical Pathology of the Nervous System Ed. Folch, 340, 1961.
12. Dobry A., Sturtevant J. M. J. Biol. Chem., 195, 141, 1952.
13. Mc. Kfann G, M., Tower D. B. Amer. J. Physiol. 200, 420, 1961.
14. Richter D., Dawson H. J. J. Biol. Chem. 176, 1199, 1948.
15. Selegson D., Selegson H. J. Lab. Clin. Med. 38, 324, 1951.
16. Weil-Malherbe H. Biol. J. 30, 665, 1936.
17. Weil-Malherbe H. Physiol. Rew. 30, 548, 1950.
18. Weil-Malherbe H., Green R. H. Biochem. J. 61, 210, 1955.
19. Weil-Malherbe H., Drysdale A. C. J. Neurochem. 1, 250, 1957.