

УДК 577.12

М. М. МЕЛКОНЯН, Э. М. МИКАЕЛЯН

## АКТИВНОСТЬ ГЛУТАМИНАЗЫ ГЛУТАМИН-СИНТЕТАЗЫ МОЗГА ПРИ ВВЕДЕНИИ НЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Изучалось действие пероксидированной и непероксидированной олеиновой и линоленовой кислот на активность глутаминазы и глутаминсинтетазы мозга белых крыс.

Результаты исследований выявили фазовые изменения в активности глутаминазы и глутаминсинтетазы. Интенсивность и направленность изменений определенным образом зависят от структуры введенной НЖК и сроков введения.

Нашими предыдущими исследованиями было показано, что при длительном введении ненасыщенных жирных кислот (НЖК) нарушается стационарное состояние в процессах аммиакообразования в мозге. Эти изменения проявляются в резком увеличении уровня свободного аммиака с одновременным сдвигом в количестве глутаминина.

Аммиакообразование является комплексным циклическим процессом. В зависимости от направленности метаболизма в нервной ткани система глутамин-глутаминовая кислота может играть роль или основного устранителя аммиака, или одного из его источников. Характер участия глутаминина в аммиакообразовании зависит от соотношения активности ферментов синтеза глутаминина (глутаминсинтетазы) и распада его (глутаминазы). Немаловажное значение имеет также степень участия глутаминина в других синтетических реакциях. Установлена возможность непосредственного включения глутаминина в белковую молекулу [2, 21].

С целью выяснения возможных источников образования аммиака в мозге при введении НЖК мы приступили к изучению состояния указанных ферментных систем

*Материал и методика.* Белым крысам весом 120—150 г. вводили внутривентриально пероксидированные и непероксидированные олеиновую и линоленовую кислоты в дозе 0,1 мл на 150,0 г веса. Пероксидированные жирные кислоты содержали 200 мкмоль перекисного кислорода на 1 г навески кислоты. Сроки эксперимента 1, 7, 14 дней.

Активность глутаминсинтетазы определяли методом Эллиота [14] в модификации Гершеновича [3]. Об активности фермента судили по образованию глутамилгидроксамовой кислоты, концентрацию которой определяли по Липману и Татлу [15]. Результаты выражали в мкмольях глутамилгидроксамовой кислоты на 1 г влажной мозговой ткани за 30 мин.

Глутаминазную активность определяли методом Фердмана и Силаковой [9] с некоторыми видоизменениями в применении к мозговой ткани. Образующийся в результате действия фермента аммиак определяли в надосадочной жидкости методом микродиффузионной перегонки Зелигсона [16] в модификации Силаковой и сотр. [8].

Активность фермента измеряли количеством азота аммиака в мг на 1 г влажной ткани за 15 мин при 37°C.

*Результаты и обсуждение.* Анализ полученных данных выявил изменение активности ферментов, ответственных за синтез и распад глутамина, приводящее к количественным сдвигам его в мозге.

Введение непероксидированной олеиновой кислоты подавляет активность глутаминсинтетазы во все сроки эксперимента в пределах 19—27% (рис. 1). Активность глутаминазы в тех же условиях повышается по сравнению с контрольным уровнем на 36—37% при суточном и 7-суточном введении и падает на 63% при 14-суточном введении (рис. 1.).

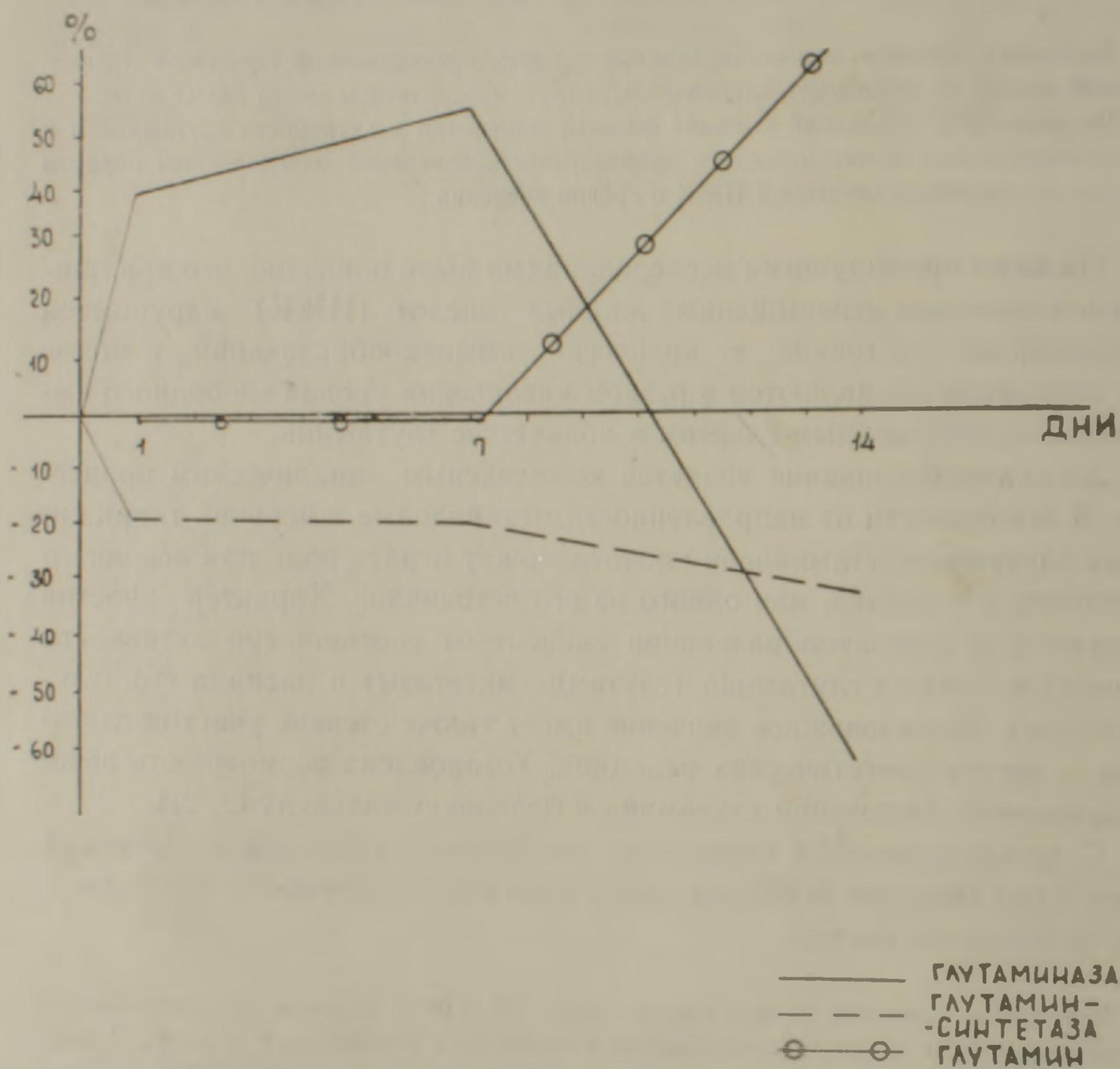


Рис. 1. Изменение активности ферментов глутаминазы и глутаминсинтетазы под влиянием олеиновой кислоты.

Сопоставление изменений активности глутаминсинтетазы и глутаминазы с количественным сдвигом глутамина показывает, что наибольшее повышение концентрации глутамина при сроке эксперимента 14 дней (на 55%) совпадает с подавлением активности глутаминазы на 63 и глутаминсинтетазы на 27%. Изменения в активности указанных ферментов в остальные сроки эксперимента почти не отражаются на уровне глутамина (рис. 1).

Пероксидированная олеиновая кислота вызывает более выраженное снижение активности глутаминсинтетазы (в пределах 32—41%) в зависимости от срока эксперимента (рис. 2). Глутаминазная активность при этом претерпевает незначительные изменения, оставаясь близкой к контрольному уровню при сроке эксперимента 1 и 7 суток и подавляется на 20% при 14-суточном введении (рис. 2). Однако количество глутаминина в этих условиях опыта значительно повышается по сравнению с контролем (в пределах 35—41% при суточном и 7-суточном эксперименте). К 14-ому дню эксперимента количество глутаминина резко падает, оказываясь ниже контрольного уровня на 14,3% (рис. 2).

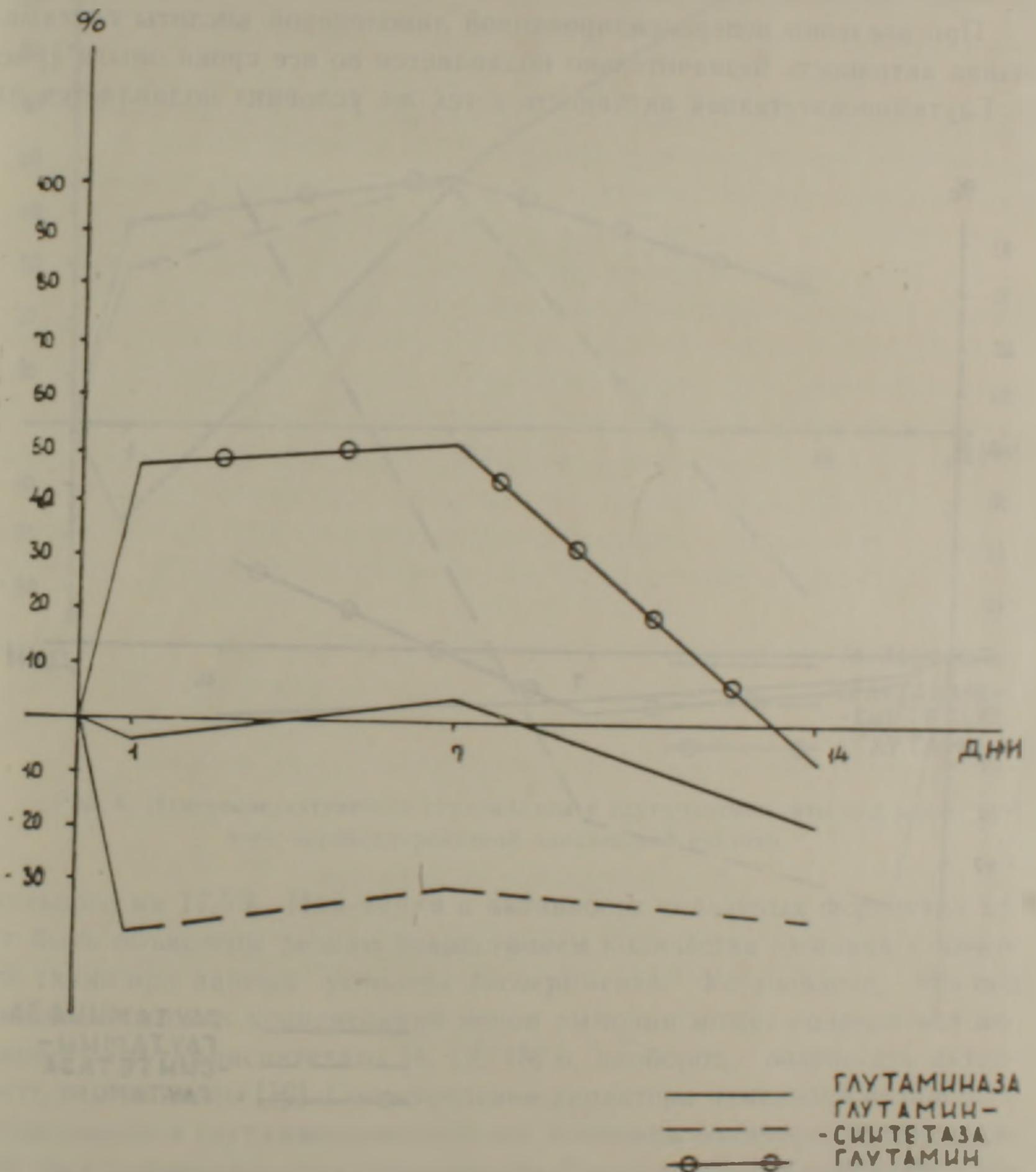


Рис. 2. Изменение активности глутаминазы и глутаминсинтетазы под влиянием пероксидированной олеиновой кислоты.

Установленный нами факт незначительных изменений в количестве глутаминина при подавлении активности глутаминсинтетазы в пределах

40% еще раз свидетельствует о том, что синтез глутамина является одним из самых интенсивных процессов, протекающих в нервной клетке [1].

Отсутствие корреляции между изменением активности глутаминазы и сдвигом глутамин в наших экспериментах может быть объяснено тем, что мы изучали только глутаминазу 1, роль глутаминазы 2 не изучалась.

Ранее было установлено, что при введении перекисидированной олеиновой кислоты повышается содержание РНК и ДНК в мозге [7], причем наибольший сдвиг отмечается на 14-ый день. Можно предположить, что глутамин при этом используется в биосинтезе пуриновых нуклеотидов.

При введении неперекисидированной линоленовой кислоты глутаминазная активность незначительно подавляется во все сроки опыта (рис. 3). Глутаминсинтетазная активность в тех же условиях подавляется на

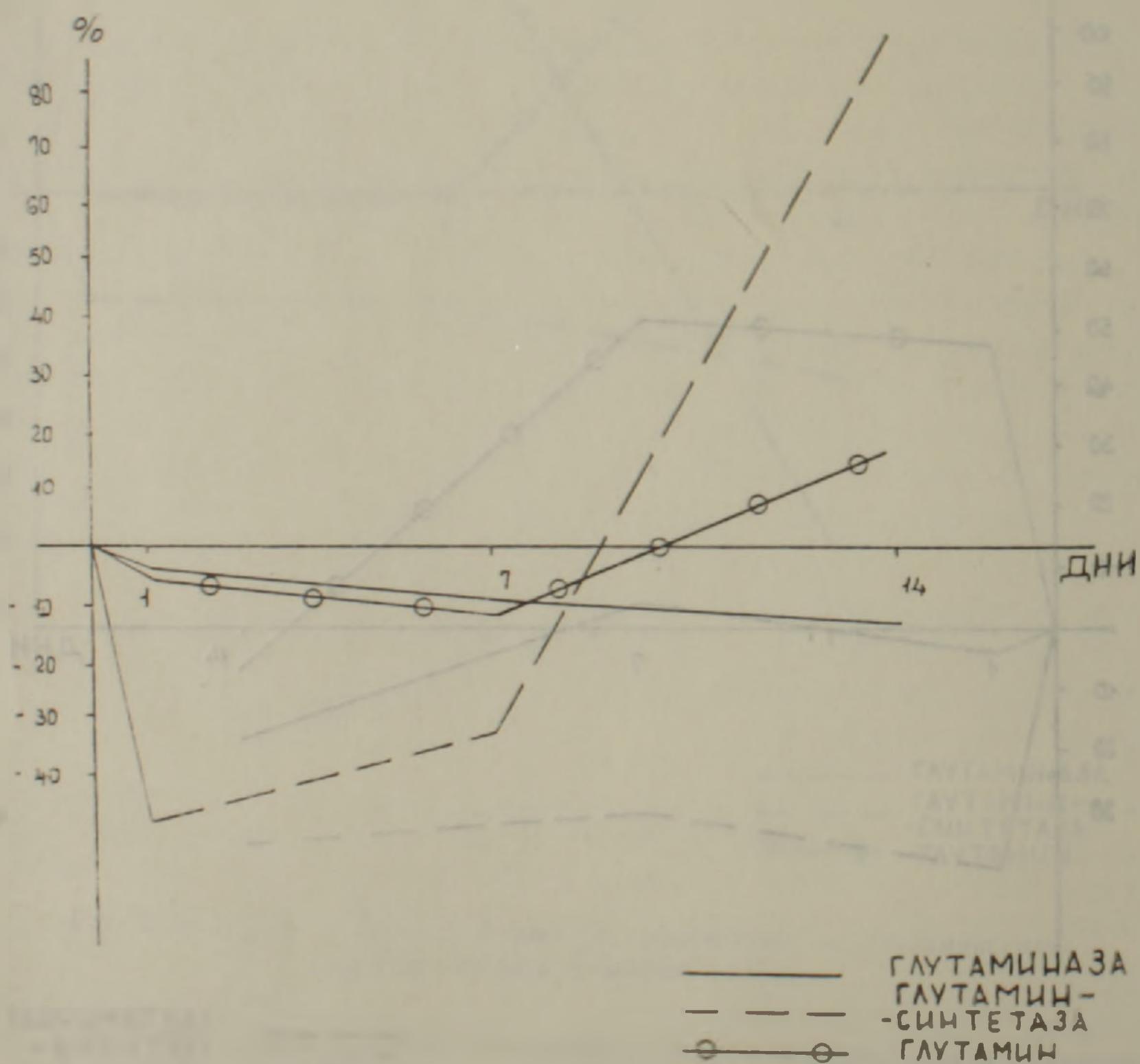


Рис. 3. Изменение активности глутаминазы и глутаминсинтетазы под влиянием линоленовой кислоты

48 и 30,4% при суточном и 7-суточном введении и повышается на 85% при 14-суточном сроке. Сдвиг в количестве глутамин при этом коррелируется изменениями активности этих ферментов (рис. 3). Повышение ак-

тивности глутаминсинтетазы в пределах 29—45% под влиянием перекисидированной линоленовой кислоты в первые сроки эксперимента (1—7 суток) совпадает с увеличением концентрации глутамина в мозге (рис. 4). К 14-му дню эксперимента глутаминсинтетазная активность ингибируется по сравнению с контрольным уровнем на 30%, глутаминазная—повышается на 95, уровень же глутамина при этом остается выше кон-

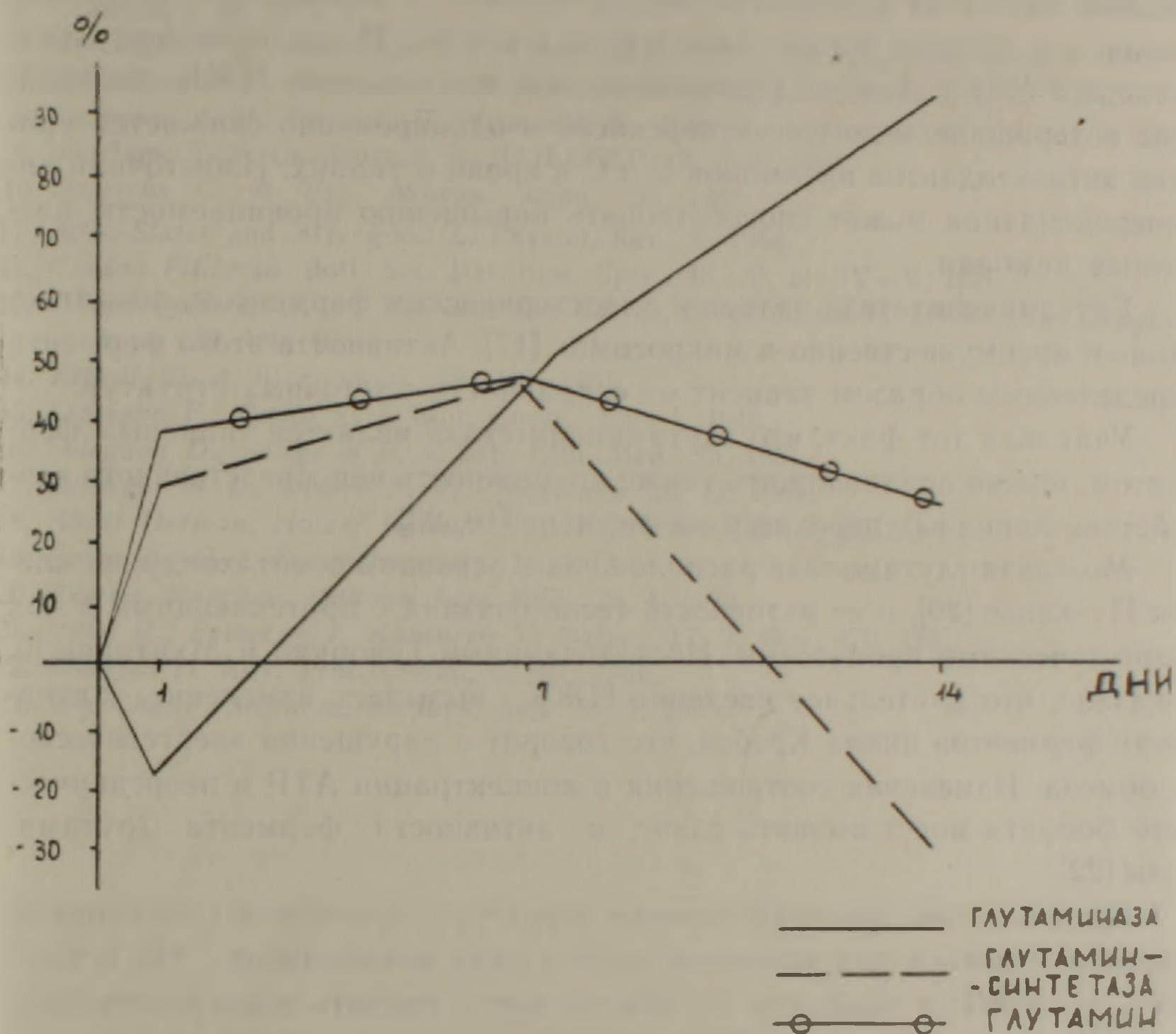


Рис. 4. Изменение активности глутаминазы и глутаминсинтетазы под влиянием перекисидированной линоленовой кислоты.

трольного на 17,5%. Изменения в активности указанных ферментов могут быть объяснены резким возрастанием количества аммиака в мозговой ткани при данных условиях эксперимента. Установлено, что под влиянием высоких концентраций ионов аммония может подавляться активность глутаминсинтетазы [4, 12, 18] и, наоборот, возрастет активность глутаминазы [19]. Сопоставление характера изменений активности глутаминазы и глутаминсинтетазы под влиянием олеиновой и линоленовой кислот выявляет их разнотипность. Это объясняется разницей в метаболизме указанных НЖК по получаемым промежуточным и конечным продуктам. Олеиновая и линоленовая кислоты могут легко проникать в мозговую ткань, так как гемато-энцефалический барьер проницаем для жирных кислот с длинной цепью [13]. Установлено, что указанные жирные

кислоты являются конкурентными ингибиторами на пути ферментативного превращения линоленовой кислоты в арахидоновую. Поэтому избыточное поступление олеиновой и линоленовой кислот приводит к значительному снижению содержания арахидоновой кислоты в составе фосфолипидов мозга [11]. Это, несомненно, отражается на проницаемости клеточных мембран. С другой стороны, длительное введение НЖК и их перекисей нарушает равновесие между процессом перекисного окисления липидов и уровнем биантиоксидантов в клетке. Исследованиями Агаджанова и Мелик-Агаевой [5] показано, что при введении НЖК повышается содержание эндогенных перекисей и одновременно снижается уровень антиоксидантов витаминов Е и С в крови и тканях. Избыточная липопероксидация может способствовать повышению проницаемости клеточных мембран.

Глутаминсинтетаза является аллостерическим ферментом, локализованным преимущественно в микросомах [17]. Активность этого фермента определенным образом зависит от сохранности клеточных структур.

Учитывая тот факт, что глутаминсинтетаза является тиоловым ферментом, можно предположить также возможность непосредственного воздействия липидных перекисей на фермент [10, 23].

Мозговая глутаминаза расположена в основном в митохондриях клеток Пуркинье [20], и ее активность тесно связана с протекающими в них энергетическими процессами. Исследованиями Геворкян и Мхитарян [6] показано, что длительное введение НЖК вызывает изменение активности ферментов цикла Кребса, что говорит о нарушении энергетического обмена. Изменения соотношения в концентрации АТФ и неорганического фосфата могут вызвать сдвиг в активности фермента глутаминазы [22].

Известно, что пространственная структура фермента глутаминазы может изменяться под влиянием целого ряда метаболитов. Не исключено, что НЖК и продукты их обмена могут оказать непосредственное влияние на глутаминазу по типу аллостерических регуляторов.

Ереванский медицинский институт

Поступило 15.IV 1974 г.

И. И. ИСІԲՈՆՅԱՆ, Է. Մ. ՄԻԿԱԵԼՅԱՆ

ԳԼՈՒՏԱՄԻՆԱԶՆԱՅԻ ԵՎ ԳԼՈՒՏԱՄԻՆՍԻՆՏԵՏԱԶՆԱՅԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՒՂԵՂՈՒՄ, ԶՀԱԳԵՑԱԾ ՃԱՐՊԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է պերօքսիդացված և չպերօքսիդացված օլեինաթթվի և լինոլենաթթվի ազդեցության տակ առնետների ուղեղում գլուտամինազայի և գլուտամինսինտետազայի ակտիվության փոփոխումները: Բացահայտվել են ֆազային տեղաշարժեր գլուտամինազայի և գլուտամինսինտետազայի ակտիվության միջև: Վերոհիշյալ փոփոխությունների ինտենսիվությունը և ուղղությունը կախված է շնագեցած ճարսպաթթուների կառուցվածքից և օրգանիզմի վրա նրանց ունեցած ազդեցության տևողությունից:

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ач Т., Балаш Р., Штрауб Ф. Укр. биохим. журнал, 25, 17, 1953.
2. Владимирова Е. А. Третья Всесоюзн. конф по биохим. нерв. системы, Ереван, 1963.
3. Гершеневич З. С., Кричевская А. Н. Биохимия, 21, 6, 1956.
4. Кретович В. Л., Ауэрман Г. Л., Генералова Т. Г. ДАН СССР, 1, 220, 1971.
5. Мхитарян В. Г., Агаджанов М. И., Мелик-Агаева Е. А., Биологический журнал Армении, 6, 26, 1974.
6. Мхитарян Л. В., Мхитарян В. Г., Геворкян Д. Н. Тр. Ер. мед. ин-та, 2, 1973.
7. Мхитарян В. Г., Микаэлян Э. М. Биологический журнал Армении, 1, 26, 1974.
8. Силакова А. И., Труш Г. П., Яковлева А. Вопросы медицинской химии, 5, 1962.
9. Фердман Д. Л., Силакова А. И. ДАН СССР, 42, 1011, 1953.
10. Эпштейн С. Ф. Укр. биохим. журн., 20, 1948.
11. *Aljin-Slater and Aftergood L.* Physiol. Rev., 4, 1968.
12. *Cimino Filiberto.* Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 48, 20, bis IV—V, 1972.
13. *Dhopeschwarer G. A., Subramanian Carole, Mead James F.* Biochem et Biophys. Acta, 239, 169, 1971.
14. *Elliott W. A.* Biochem. J., 49, 101, 1951.
15. *Lipmann F., Tuttle K.* J. Biol. Chem., 150, 1, 1945.
16. *Seligson D., Seligson H. J.* Lab. Clin. Med., 38, 1951.
17. *Selinger O. L., Domer F. R.* Experientia, 20, 12, 1964.
18. *Shutt Herman, Holzer Helmut.* Eur. J. Biochem., 26, 1, 1972.
19. *Svenneby G. J.* Neurochemistry, 11, 1971.
20. *Temma Masenao.* Shikoku Acta Med., 28, 4, 1972.
21. *Vrba R., Folberge J., Kanturek V.* Nature, 17, 9, 4557, 470, 1957.
22. *Waelsch H.* Adv. Prot. Chem., 6, 301, 1951.
23. *Wu Chang.* Biochem. Biophys. Acta, 96, 1, 1965.