

Г. Г. БУНЯТЯН, Г. А. МКРТЧЯН, Э. Г. АДУНЦ

ЗНАЧЕНИЕ АДФ В МЕТАБОЛИЗМЕ α -КЕТОГЛУТАРОВОЙ КИСЛОТЫ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ СТАРЕНИИ

Изучалось окисление и восстановительное аминирование α -кетоглутаровой кислоты (α -КГ) за счет эндогенного аммиака, а также роль АДФ в указанных процессах в митохондриальной фракции (МФ) печени белых крыс при старении. Добавление АДФ значительно повышает дыхание МФ печени 6-месячных, годовалых и 2-летних животных, особенно в присутствии α -КГ. Восстановительное аминирование α -КГ в глутаминовую кислоту (ГК) за счет эндогенного аммиака протекает с незначительной интенсивностью. АДФ заметно снижает уровень эндогенного аммиака, при этом содержание ГК увеличивается незначительно.

Установлено, что в МФ мозга на протяжении всего постэмбрионеза добавленная ГК окисляется незначительно. Интенсивность этого процесса, заметно не меняющаяся с возрастом, выражено стимулируется в присутствии АДФ, действие которого по мере развития существенно понижается. Однако это явление в МФ печени менее выражено. Полученные данные свидетельствуют о том, что обменные процессы в печени при старении страдают в меньшей степени. Аналогичные результаты были получены и в отношении окислительного деаминирования ГК [1].

Изучение процессов окисления и восстановительного аминирования α -КГ в МФ мозга показало, что даже при добавлении аммиака и АДФ восстановительное аминирование протекает менее интенсивно, нежели окисление α -КГ [2].

Исходя из вышеизложенного, мы задались целью выяснить особенности окисления и восстановительного аминирования α -КГ и значение в этих процессах АДФ в отсутствие аммиака в МФ печени белых крыс при старении. Необходимо отметить, что эти вопросы в указанном аспекте не изучены, если не считать скудных данных по окислению α -КГ [3].

Материал и методика. Исследования проводили на МФ печени 6-месячных, годовалых и 2-летних (старых) белых крыс, содержащихся на обычном лабораторном рационе. Дыхание определяли манометрическим методом Варбурга, аммиак и глутамин—микродиффузионным методом [4, 5], ГК—методом электрофореза на бумаге [6, 7]. α -КГ и АДФ брали в конечной концентрации 10 мМ и 2 мМ соответственно.

Результаты и обсуждение. Как видно из табл. 1, интенсивность эндогенного дыхания МФ печени белых крыс с возрастом снижается и становится наиболее низкой у старых животных. АДФ заметно стиму-

Таблица 1

Действие АДФ на интенсивность окисления α -КГ в МФ печени белых крыс
(мкмоль O_2 /г свежей ткани/30 мин) при старении

Возраст	Контроль	АДФ		α -КГ		α -КГ+АДФ	
		поглощение O_2	разница с контролем	поглощение O_2	разница с контролем	поглощение O_2	разница с АДФ
6 месяцев	$4,36 \pm 0,3$ (9)	$4,74 \pm 0,45$ (9)	+0,38	$16,52 \pm 0,92$ (8)	+12,16	$23,4 \pm 0,82$ (12)	+18,66
1 год	$3,69 \pm 0,22$ (9)	$4,92 \pm 0,4$ (12)	+1,23	$18,54 \pm 0,85$ (11)	+14,85	$29,07 \pm 0,98$ (9)	+24,15
2 года	$3,1 \pm 0,19$ (12)	$4,88 \pm 0,36$ (12)	+1,78	$14,91 \pm 0,73$ (12)	+11,81	$24,57 \pm 0,83$ (11)	+19,69

лирует его интенсивность. С возрастом действие АДФ даже усиливается. Добавленная к МФ печени α -КГ довольно активно окисляется у животных всех возрастных групп. Дыхание на α -КГ у 6-месячных и годовалых крыс находится примерно на одинаковом уровне, а в старческом возрасте выражено снижается. В этом отношении представляло определенный интерес выявить степень окисления α -КГ в условиях стимулирования этого процесса со стороны АДФ без добавления аммиака.

Данные этой же таблицы показывают, что АДФ и в отсутствие экзогенного аммиака в значительной мере стимулирует окисление α -КГ, при этом поглощение кислорода в опытах с α -КГ и АДФ по сравнению с опытами, где присутствует только АДФ, происходит с наибольшей интенсивностью в МФ печени годовалых крыс, а у 6-месячных и старых крыс интенсивность этого процесса почти одинакова. Однако, если сравнить полученные при комбинации α -КГ+АДФ данные с результатами опытов с одной α -КГ, то изменения у годовалых и старых крыс выражены примерно в одинаковой степени—10,53 и 9,66 мкмоль O_2 соответственно (у 6-месячных животных эта разница составляет 6,88 мкмоль).

Дальнейшие исследования показали (табл. 2), что количество суммарного аммиака (свободный аммиак+амидоазот глутамина) до годовалого возраста не подвергается особым сдвигам, а в старческом возрасте заметно снижается. Установлено, что при этом особенно уменьшается содержание глутамина (табл. 3), за счет которого, вероятно, повышается уровень аммиака. Интенсивность образования суммарного аммиака за счет эндогенных источников и добавленного АДФ несколько усиливается до годовалого возраста и не подвергается особым изменениям до старости. При добавлении к МФ печени α -КГ, как видно из табл. 2, происходит выраженное снижение этого показателя, что в основном следует объяснить процессом восстановительного аминирования α -КГ, интенсивность которого несколько снижается к старости. В опытах с α -КГ+АДФ уровень аммиака снижается в более вы-

Таблица 2

Действие АДФ на интенсивность восстановительного аминирования α -КГ за счет эндогенного аммиака в МФ печени белых крыс (мкмоль азота суммарного аммиака/г свежей ткани/40 мин) при старении

Возраст	До инкубации	После инкубации							
		контроль		АДФ		α -КГ		α -КГ + АДФ	
			разница		разница с контролем		разница с контролем		разница с АДФ
6 месяцев	0.81 ± 0.03 (9)	1.7 ± 0.07 (9)	+0.89	2.17 ± 0.14 (6)	+0.47	0.72 ± 0.08 (9)	-0.98	0.67 ± 0.03 (9)	-1.5
1 год	0.86 ± 0.03 (9)	2.04 ± 0.07 (12)	+1.18	3.12 ± 0.12 (12)	+1.08	1.23 ± 0.09 (12)	-0.81	0.95 ± 0.04 (12)	-2.17
2 года	0.7 ± 0.05 (12)	1.81 ± 0.03 (12)	+1.11	2.79 ± 0.08 (12)	+0.98	1.15 ± 0.02 (12)	-0.66	0.88 ± 0.02 (12)	-1.91

раженной степени, однако действие АДФ заметно усиливается к годовалому возрасту, существенно не изменяясь до старости. Уменьшение количества суммарного аммиака при добавлении одной α -КГ и в сочетании с АДФ составляет соответственно: 0,98; 0,81; 0,66 и 1,5; 2,17; 1,91 мкмоль.

Из табл. 3 видно, что содержание глутамина в МФ печени старых крыс заметно ниже, чем у годовалых и 6-месячных. В процессе инкубации образование глутамина у старых животных четко повышается. АДФ и α -КГ сами по себе особого влияния на этот процесс не оказывают. Аналогичные результаты получены и в опытах с α -КГ + АДФ.

В табл. 4 приведены результаты изучения количественных изменений в содержании ГК в МФ печени белых крыс указанных возрастов. При инкубировании МФ уровень ГК несколько снижается. Добавленный АДФ особых изменений в этом показателе не вызывает. В присутствии одной α -ГК образуется некоторое количество ГК, при этом наименее интенсивно у старых крыс. В опытах с α -КГ + АДФ по сравнению с пробам, где присутствовал один АДФ, отмечается некоторое повышение синтеза ГК, выраженное почти в одинаковой степени у животных всех возрастных групп. Однако, если сравнить уровень ГК в опытах с одной α -КГ и α -КГ + АДФ, то во втором случае усиление ее образования весьма незначительное.

Приведенные данные свидетельствуют о несоответствии между убылью суммарного аммиака (табл. 2) и образованием ГК (табл. 4). Это обстоятельство, вероятно, можно объяснить тем, что вновь синтезированная ГК подвергается дальнейшим превращениям.

Итак, изучение процессов окисления и восстановительного аминирования α -КГ в МФ печени позволяет заключить, что восстановительное аминирование α -КГ протекает менее интенсивно, нежели ее окис-

Таблица 3

Действие АДФ на количественные сдвиги в содержании глутамина (мкмоль амидоазота глутамина/г свежей ткани/40 мин) при восстановительном аминировании α -КГ в МФ печени белых крыс при старении

Возраст	До инкубации	После инкубации							
		контроль		АДФ		α -КГ		α -КГ+АДФ	
			разница		разница с контролем		разница с контролем		разница с АДФ
6 месяцев	0,61 $\pm$ 0,04 (7)	0,53 $\pm$ 0,04 (9)	-0,08	0,39 $\pm$ 0,02 (6)	-0,14	0,7 $\pm$ 0,08 (9)	+0,17	0,47 $\pm$ 0,02 (5)	+0,08
1 год	0,55 $\pm$ 0,04 (9)	0,65 $\pm$ 0,07 (12)	+0,1	0,67 $\pm$ 0,09 (12)	+0,02	0,77 $\pm$ 0,05 (12)	+0,12	0,5 $\pm$ 0,01 (9)	-0,17
2 года	0,38 $\pm$ 0,04 (12)	0,6 $\pm$ 0,02 (12)	+0,22	0,59 $\pm$ 0,01 (12)	-0,01	0,83 $\pm$ 0,04 (12)	+0,23	0,68 $\pm$ 0,03 (12)	+0,09

Таблица 4

Действие АДФ на синтез ГК (мкмоль/г свежей ткани/40 мин) путем восстановительного аминирования α -КГ за счет эндогенного аммиака в МФ печени белых крыс при старении

Возраст	До инкубации	После инкубации							
		контроль		АДФ		α -КГ		α -КГ+АДФ	
			разница		разница с контролем		разница с контролем		разница с АДФ
6 месяцев	0,25 $\pm$ 0,03 (8)	0,21 $\pm$ 0,03 (11)	-0,04	0,2 $\pm$ 0,03 (9)	-0,01	0,66 $\pm$ 0,03 (12)	+0,45	0,73 $\pm$ 0,04 (10)	+0,53
1 год	0,29 $\pm$ 0,01 (14)	0,24 $\pm$ 0,01 (14)	-0,05	0,22 $\pm$ 0,01 (14)	-0,02	0,71 $\pm$ 0,02 (14)	+0,47	0,81 $\pm$ 0,01 (14)	+0,59
2 года	0,3 $\pm$ 0,02 (14)	0,25 $\pm$ 0,02 (16)	-0,05	0,22 $\pm$ 0,02 (16)	-0,03	0,56 $\pm$ 0,02 (12)	+0,31	0,73 $\pm$ 0,05 (14)	+0,51

ление; подобное явление отмечалось и в исследованиях, проведенных на МФ мозга [2, 8]. Примечательно, что интенсивность восстановительного аминирования α -КГ в МФ печени в 2 раза выше, чем окислительного деаминирования ГК [1], между тем как в исследованиях с кристаллической глутаматдегидрогеназой печени обратная реакция интенсивнее прямой в 10 раз [9, 10].

Проведенные исследования позволяют заключить, что АДФ играет важную роль в метаболизме α -КГ особенно в период старения, стимулируя ее окисление и в меньшей степени восстановительное аминирование.

Գ. Զ. ԲԱՆԵՍԱՐՅԱՆ, Գ. Զ. ՄԿՐՏՉՅԱՆ, Է. Գ. ԱՌԻՆՅԱՆ

**ԱԴՅ-Ի ՆՇԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ α -ԿԵՏՈԳԼՈՒՏԱՐԱԹՔՎԻ
ՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՄԵՋ ՍՊԻՏԱԿ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԼՅԱՐԴԻ
ՄԻՏՈՔՈՆԴՐԻԱՆԵՐՈՒՄ ԾԵՐԱՑՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ**

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է ապիտակ առնետների լյարդի միատոքոնդրիալ ֆրակցիայում (ՄՖ) ծերացման ժամանակ α -կետոգլուտարաթիվի (α -ԿԳ) ռաիդացումը և նրա ամինացումը ամոնիակի էնդոգեն քանակների դեպքում, ինչպես նաև ԱԴՅ-ի դերն այս պրոցեսներում: ԱԴՅ-ը զգալիորեն փոխանում է լյարդի ՄՖ-ի շնչառությունը պեք ամսական, մեկ և երկու տարեկան սկնդկանների մոտ, հատկապես α -ԿԳ-ի ներկայությամբ: α -ԿԳ-ի ստիմուլացումը ի հաշիվ էնդոգեն ամոնիակի ընթացում է ցածր ինտենսիվությամբ: Ավելացված ԱԴՅ-ը ներառեցիորեն փոխանում է էնդոգեն ամոնիակի անկարգակր, որի դեպքում զրոտամինաթիվի քանակը նշանաբանի շտիկով ավելանում է:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ափրիկյան Գ. Յ. և Մադուրյան Յ. Ա. Вопросы биохимии мозга, Ереван 8, 91, 1973.
2. Մադուրյան Յ. Ա., Бунятыан Գ. Գ. և Ափրիկյան Գ. Յ. ДАН АрмССР, в печати.
3. Weinbach E., Garbus J. J. Biol. Chem., 234, 412, 1959.
4. Sellgson D., Sellgson H. J. Lab. Clin. Med., 38, 324, 1951.
5. Силакова А. И., Труш Г. П. и Являкова А. Вопросы медицинской химии, 5, 538, 1962.
6. Crassmann W., Hanning E. and Plocki M. Zeit. Physiol. Chem., 299, 258, 1955.
7. Бунятыан Գ. Խ. և Ափրիկյան Գ. Յ. Вопросы биохимии, Ереван, 2, 5, 1961.
8. Бунятыан Գ. Գ. ДАН АрмССР, в печати.
9. Olson J. A., Anfinsen C. B. J. Biol. Chem., 197, 67, 1952.
10. Olson J. A., Anfinsen C. B. J. Biol. Chem., 202, 841, 1953.