

CATECHOLAMINE CONTENT AND MONOAMINO-OXIDASE IN THE BRAIN SINAPTOSOMES AT DIFFERENT FUNCTIONAL STATES OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

L. H. STEPANIAN

The changes in noradrenaline and adrenaline contents and monoaminooxidase activity in the rat brain sinaptosomes have been studied during natural physiological effects.

The increase in the level of adrenaline and noradrenaline and decrease of enzyme activity are noted during alimentary and conditioned alimentary excitation. The conditioned alimentary inhibition causes a decrease in the noradrenaline content. The adrenaline content remains unchanged. The enzyme activity is decreased at this state too.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Брусова Л. В., Вьюгова А. А., Горкин В. З. Укр. биохим. журн., 37, 463—471, 1965.
2. Буданцев А. Ю. Моноаминэргические системы мозга. М., 1976.
3. Глебов Р. Н., Крыжановский Г. Н. Функциональная биохимия синапсов. М., 1978.
4. Глебов Р. Н., Шевцов В. В., Гришанкова Е. Е., Стальная И. Д., Мезенцев А. Н. Бюлл. exper. биологии и медицины, 72, 36—38, 1970.
5. Васильевых Л. Г., Горкин В. З., Коган З. С. Биохимия, 1542—1550, 1979.
6. Горкин В. З. IV Всесоюзный биохим. съезд. Тез. докл. 119—120, л., 1979.
7. Казарян К. А., Назаретян Э. Е. Биолог. ж. Армении, 31, 514—519, 1978.
8. Степанян Л. А. Тр. Ер. мед. ин-та, 19, кн.2, 54—58, 1980.
9. Хачатрян Г. С., Степанян Л. А., Аветисян Н. Г. Вопросы биохимии мозга. 8, 221—237, 1973.
10. Утевский А. М., Осинская В. О. Укр. биохим. журн. 47, 6, 683—695, 1975.
11. Butcher L. L., Engel J., Fuxe J. Brain Res., 41, 387—411, 1972.
12. Iversen L. L. Biochem. Pharmacol., 23, 1927—1935, 1974.
13. Marchbanks R. J. Neurochem., 13, 1481, 1966.
14. Sandler M., Youdim M. B. Pharmacol. Rev., 24, 331—348, 1972.
15. Youdim M. B., Collins G. G. S., Sandler M. Nature, 223, 626—628, 1969.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 8, 1982

УДК 591.1.05

ВЛИЯНИЕ АТФ НА ОБРАЗОВАНИЕ АММИАКА И ГЛЮКОЗЫ ИЗ РЯДА L-АМИНОКИСЛОТ В КОРКОВОМ СЛОЕ ПОЧЕК ПРИ ИХ ПОРАЖЕНИИ МАЛЕИНОВОЙ КИСЛОТОЙ

Ж. С. ГЕВОРКЯН, А. С. ОГАНЕСЯН, И. Р. ФАТАЛОВА

Под действием малеиновой кислоты наблюдается выраженное нарушение функциональной деятельности почек, подавление активности ферментов, осуществляющих деаминирование L-глутаминовой, L-аспарагиновой кислот и L-орнитина, а также торможение образования глюкозы из этих аминокислот в корковом слое почек белых крыс. Введение АТФ экспериментальным животным или добавление его к инкубируемым средам приводит к восстановлению активности указанных ферментов и процессов глюконеогенеза.

Ранее нами было установлено, что при повышении содержания АТФ в почечной ткани усиливается деаминирование ряда L-аминокислот, обратное явление имеет место при понижении его количества [2,3]. Опыты на ткани нефункционирующих почек человека выявили резкое снижение тканевого дыхания, содержания АТФ и аминокислот-деаминирующей способности [4].

В определенных условиях (при низком уровне АТФ в почечной ткани) добавление АТФ к срезам почек или введение его в организм животного приводило к повышению активности ферментов, осуществляющих деаминирование некоторых L-аминокислот (глутаминовой, аспарагиновой, орнитина), а также повышение диуреза, усиление фильтрующей и секреторной способности почек и возрастание экскреции мочевины и аммиака с мочой [5].

Таким образом, результаты проведенных исследований показали стимулирующее действие АТФ на функцию почек. Исходя из вышесказанного, в дальнейшем мы провели ряд исследований по изучению влияния этого нуклеотида на функциональную деятельность почек и некоторые показатели метаболических процессов, протекающих в них при их поражении под действием малеиновой кислоты, вызывающей значительные нарушения в деятельности этого органа [7], условно называемые нами «медикаментозным нефритом».

Материал и методика. Опыты проводили на трех группах экспериментальных животных (белые крысы массой 140—160 г); контрольные, больные нефритом, больные нефритом, но получившие АТФ.

Нефрит вызывали подкожным введением малеиновой кислоты. из расчета 300 мг/кг массы в течение двух дней. На фоне развившегося нефрита или параллельно с введением малеиновой кислоты животным вводили АТФ подкожно из расчета 60 мг/кг массы в течение 3 дней, после чего их всех забивали, удаляли почки и в холодных условиях приготавливали срезы коркового слоя с целью изучения активности ферментов, осуществляющих деаминирование L-глутаминовой, L-аспарагиновой кислот и L-орнитина, а также интенсивности образования аммиака из этих аминокислот. Срезы почек, по 100 мг, инкубировали в Krebs-Рингер-бикарбонатном буфере (2мл) при $t = -37^\circ$ в течение одного часа. К каждой пробе добавляли: по 16 мкМ глутаминовой, аспарагиновой кислот и орнитина и по 4мкМ глутамин. Аммиак определяли микродиффузионным методом по Конве [6], мочевину—с помощью биотеста «Мочевина» (Чехословакия), фильтрующую способность почек—с помощью гипосульфита натрия, белок в моче по появлению пробы Геллера, глюкозу—по Дюмазеру.

Результаты и обсуждение. Как видно из табл. 1, после двукратного введения малеиновой кислоты у экспериментальных животных наблюдается выраженная протеинурия, повышается концентрация мочевины в крови и снижается клубочковая фильтрация почек. Отмечается также значительное повышение диуреза, что является результатом снижения реабсорбции воды в почечных канальцах.

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что при малеиновым нефрите образование аммиака из всех добавленных аминокислот значительно подавляется, особенно из глутаминовой и аспарагиновой кислот, деамидирование глутамин не страдает. В этих условиях до-

Действие малеиновой кислоты на некоторые показатели
функциональной деятельности почек
Средние данные 6-ти опытов

Показатели	Контрольные животные	Больные животные
Фильтрация, мл	$2,6 \pm 0,4$	$1,2 \pm 0,15$
Диурез, мл за 24 ч	$5,2 \pm 0,8$	$9,5 \pm 1,0$
Содержание белка в моче, ‰	следы	$0,165 \pm 0,04$
Содержание мочевины в крови, мг %	$40,0 \pm 4,2$	$85,0 \pm 7,2$

бавление АТФ *in vitro* или введение его *in vivo* в значительной мере способствует восстановлению интенсивности процессов деаминирования указанных аминокислот.

Таблица 2

Влияние малеиновой кислоты и АТФ на образование
аммиака из некоторых L-аминокислот в корковом
слое почек, мкМ/г ткани/час
Средние данные 6-ти опытов

Условия опыта	Глутамино- вая кислота	Аспарагино- вая кислота	Орнитин	Глутамин
Контроль	$9,2 \pm 1,0$	$13,0 \pm 1,2$	$17,6 \pm 1,5$	$16,8 \pm 1,6$
Нефрит	$2,4 \pm 0,3$	$5,2 \pm 0,8$	$9,2 \pm 1,0$	$17,6 \pm 1,2$
Нефрит + АТФ (<i>in vivo</i>)	$6,8 \pm 0,5$	$9,4 \pm 0,8$	$14,5 \pm 1,5$	$18,4 \pm 1,5$
Нефрит + АТФ (<i>in vitro</i>)	$6,2 \pm 0,7$	$8,5 \pm 0,9$	$12,7 \pm 1,2$	$17,7 \pm 1,2$
Нефрит + АТФ + диамид (<i>in vitro</i>)	$3,2 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,4$	$10,0 \pm 1,2$	$16,8 \pm 1,3$

Новообразование глюкозы из аминокислот, как свидетельствуют данные табл. 3, при нефрите подавляется в более выраженной степени, чем образование аммиака. АТФ и здесь оказывает благотворное влияние, восстанавливая интенсивность процессов глюконеогенеза.

Таблица 3

Влияние малеиновой кислоты и АТФ на образование
глюкозы из некоторых L-аминокислот в корковом
слое почек, мг/г ткани/час
Средние данные 5-ти опытов

Условия опыта	Глутамино- вая кислота	Аспарагино- вая кислота	Орнитин	Глутамин
Контроль	$4,4 \pm 0,7$	$4,0 \pm 0,6$	$3,4 \pm 0,4$	$4,0 \pm 0,1$
Нефрит	$0,8 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,02$	$0,8 \pm 0,01$
Нефрит + АТФ (<i>in vitro</i>)	$3,0 \pm 0,2$	$3,6 \pm 0,4$	$3,0 \pm 0,4$	$3,4 \pm 0,3$

Таким образом, под действием малеиновой кислоты происходят значительные изменения в функциональной деятельности и мета-

болизме почек. Каков механизм этих сдвигов? Малениновая кислота как цис-изомер фумаровой кислоты вызывает блокирование цикла трикарбоновых кислот, что приводит к значительному снижению энергетических ресурсов почечной ткани (табл.4). Как показали проведенные нами ранее исследования, при понижении энергетического состояния почечной ткани усиливается дефосфорилирование белков почек, в том числе и ферментов (глутаматдегидрогеназы и др.), осуществляющих деаминирование вышеуказанных аминокислот. Нами было установлено, что глутаматдегидрогеназа (возможно, и ферменты, учитывающие в процессах деаминирования L-аспарагиновой кислоты и L-орнитина) является фосфопротеином, дефосфорилирование которого приводит к снижению ее активности [1].

Т а б л и ц а 4
Влияние малениновой кислоты на содержание АТФ
в корковом слое почек
Средние данные 4-х опытов

Условия опыта	Содержание АТФ, мкМ/г ткани
Контроль	0,4±0,05
Нефрит	0,2±0,03

Наблюдаемое торможение образования аммиака из указанных выше аминокислот следует объяснить снижением активности соответствующих ферментов в результате их дефосфорилирования, что в свою очередь связано со снижением уровня макроэргических соединений в почечной ткани. Об этом свидетельствуют результаты опытов, показавших восстановление активности этих ферментов в присутствии добавленного АТФ. Добавление диамида (ингибитора протеинкиназы) снимает стимулирующий эффект АТФ, что указывает на вовлечение в эти процессы протеинкиназной реакции. Нами было показано, что при инкубировании срезов почек в условиях, приводящих к возрастанию в них содержания АТФ, повышаются количество цАМФ, активность протеинкиназы и ферментов, осуществляющих деаминирование глутаминовой, аспарагиновой кислот и орнитина.

Надо полагать, что подавление глюконеогенеза из аминокислот под действием малениновой кислоты связано, с одной стороны, с торможением процессов деаминирования аминокислот и образования кетокислот, с другой—со снижением содержания макроэргических фосфорных соединений почечной ткани. Об этом свидетельствуют приведенные данные—усиление образования глюкозы из L-аминокислот в присутствии АТФ, что связано как со стимулированием процессов их деаминирования и образования кетокислот, так и с ускорением процессов обратного синтеза глюкозы из них. Известно, что фильтрационные и особенно реабсорбционные и секреторные процессы, протекающие в почках, осуществляются против высокого концентрационного градиента и сопровождаются затратой большого количества энергии. Поэтому надо

полагать, что снижение энергетического уровня почечной ткани под действием малеиновой кислоты обуславливает также расстройства в функциональной деятельности почек.

Институт биохимии АН Армянской ССР

Поступило 17.VII 1981 г.

**ԱՏՖ-ի ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՄԻ ՇԱՐՔ Լ-ԱՄԻՆԱԹՈՒՆԵՐԻՑ
ԱՄԻԱԿԻ ԵՎ ԳԼՅՈՒԿՈՉԱՅԻ ԱՌԱՋԱՑՄԱՆ ՎՐԱ ԵՐԻԿԱՄԻ
ԿԵԴԵՎԱՅԻՆ ՇԵՐՏՈՒՄ ՄԱԼԵԻՆԱԹՎԱՅԻՆ ԱՅՏԱՀԱՐՄԱՆ ԴԵՊՔՈՒՄ**

ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ Ժ. Ս., ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ Ա. Ս., ՖԱՏԱԼՈՎԱ Ի. Բ.

Ցույց է տրված, որ մալեինաթթվի ազդեցության տակ նկատվում է երիկամի ֆունկցիոնալ դործունեության արտահայտված խանգարում, ինչպես նաև մի շարք Լ-ամինաթթուների (գլյուտամինաթթու, ասպարազինաթթու, օրնիտին) դեամինացմանը մասնակցող ֆերմենտների ու այդ ամինաթթուներից գլյուկոզայի առաջացման պրոցեսների զգալի արգելակում երիկամի կեղևային շերտում: Փորձնական կենդանիներին ԱՏՖ ներարկելու կամ ինկուբացվող կտրվածքներին այն ավելացնելու դեպքում նկատվում է վերոհիշյալ ֆերմենտների և գլյուկոզնեոգենետիկ պրոցեսների ակտիվության վերականգնում:

**THE EFFECT OF ATP ON THE PRODUCTION OF AMMONIA
AND GLUCOSE FROM SOME L-AMINOACIDS IN RENAL
CORTEX UPON ITS DAMAGE BY MALEIC ACID**

J. S. GEVORKIAN, A. S. OGANESIAN, I. R. FATALOVA

It is shown that maleic acid causes a pronounced disturbance of rat renal activity, as well as inhibition of enzyme activity, accomplishing deamination of some L-aminoacids (glutamic, aspartic acids and ornithine) and processes of glucose formation from the above-mentioned aminoacids in renal cortex.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бунятян Г. Х., Геворкян Ж. С. и Оганесян А. С. Докл. АН СССР, 261, 4, 1006, 1981.
2. Геворкян Ж. С. и Оганесян А. С. Докл. АН Арм. ССР, 68, 183, 1979.
3. Лайта А., Шварц М., Сершен Г., Геворкян Ж. С. и Оганесян А. С. Докл. АН Арм. ССР, 68, 50, 1979.
4. Мидоян А. А., Оганесян А. С. и Чобанян К. А. Ж. эксп. и клин. мед., 15, 56, 1975.
5. Мидоян А. А., Геворкян Ж. С. и Оганесян А. С. Ж. эксп. и клин. мед., 21, 370, 1981.
6. Conway E. J. Microdiffusion analysis and volumetric error, London, 1947.
7. Mocielnicki R. P., Waldman T. A., Strober W. J. Clin. invest., 50, 901, 1971.