

А К А Д Е М И Я Н А У К С С С Р
НАУЧНЫЙ СОВЕТ ПО ПРОБЛЕМЕ «БИОХИМИЯ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА»
ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ СОВЕТ
«ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ»

ПРОБЛЕМЫ НЕЙРОХИМИИ

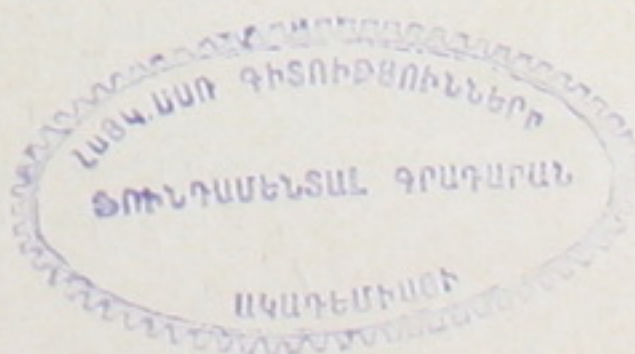
ОТДЕЛЬНЫЙ ОТТИСК



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»
Москва · Ленинград
1 9 6 6

3. H. L a s e r, Proc. Roy. Soc., Ser. B., 146, 231 (1952).
4. W. L. M e n g e b i e r, Am. J. Physiol., 177, 231 (1954).
5. K. P. S t r i c k l a n d, Can. J. Biochem. Physiol., 32, 50 (1954).
6. J. M. F i n d l a y, R. J. R o s s i t e r a. K. P. S t r i c k l a n d, Biochem. J., 55, 200 (1953).
7. Н. П. Л и с о в с к а я, Биохимия, 19, 620 (1954).
8. W. T h o r n, G. P f l e i d e r e r, R. A. T r o w e l a. J. R o s s, Arch. ges. Physiol., 261, 334 (1955).
9. E. E. S a m s o n, W. M. B a l f o u r a. N. D a h l, Feder. Proc., 17, 140 (1958).
10. В. М. К у ш к о и Л. Ф. П а н ч е н к о, Патол. физиол. и экспер. терапия, 3, 22 (1959).
11. Е. М. К р е п с, А. А. С м и р н о в и Д. А. Ч е т в е р и к о в. В сб.: Биохимия нервной системы. Киев, 125 (1954).
12. Д. А. Ч е т в е р и к о в, ДАН СССР, 105, 1300 (1955).
13. В. Я. Д в о р к и н, Д. А. Ч е т в е р и к о в и А. А. Ш м е л е в, Биохимия, 28, 475 (1963).
14. D. J. H a n a h a n, J. C. D i t t m e r a. E. W a r a s h i n a, J. Biol. Chem., 226, 497 (1957).
15. G. B. A n s e l l a. E. F. M a r s h a l l, J. Neurochem., 10, 883 (1963).
16. О. Н. С а в ч е н к о, Вопр. мед. химии, 4, 139 (1958).
17. Г. Е. В л а д и м и р о в, Н. И. П р а в д и н а, Т. Н. И в а н о в а и Л. Н. Р у б е л ь, Биохимия, 24, 892 (1959).
18. S. D o n h o f f e r, G. M e s t g á n, L. N a g y a. G. S z e g v á r y, Acta neuro-veget., 16, 390 (1957).
19. К. П. И в а н о в, Физиол. журн. СССР, 47, 210 (1961).

P III
23/86



НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ БИОАКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА

УЧАСТИЕ γ -АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ В МЕТАБОЛИЗМЕ ОСНОВНЫХ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ИСТОЧНИКОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Г. Х. Бунятыян

Институт биохимии Академии наук Армянской ССР, Ереван

После открытия γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) в составе головного мозга развернулись широкие исследования в отношении выяснения ее превращений, участия ГАМК в процессах метаболизма мозга и ее роли в его функциональной активности. Однако многие весьма важные стороны, касающиеся этих вопросов, остаются до сих пор открытыми.

Существуют разногласия в отношении интенсивности окисления и распада самой ГАМК в мозговой ткани. По данным Цукады и сотр. [1, 2], ГАМК лишь несколько уступает глюкозе в отношении поддержания поглощения кислорода срезами коры головного мозга морских свинок. В исследованиях Мак-Канна и Тауэра [3, 4] ГАМК, добавленная к срезам коры головного мозга кошек, повышала дыхательную активность срезов в такой же степени, как глюкоза и глутамат. В этих работах было показано, что ГАМК так же эффективно, как и пируват, глутамат и семиальдегид янтарной кислоты, служила субстратом для окислительного фосфорилирования в митохондриях коры головного мозга крыс. На основании полученных данных Мак-Канн и Тауэр [3, 4] и Робертс [5] пришли к выводу, что значительная часть глутамата (примерно 40%) может включаться в цикл трикарбоновых кислот по пути: ГАМК—семиальдегид янтарной кислоты—сукцинат.

Многочисленные исследования, проведенные в нашей лаборатории [6], не подтвердили результаты исследований Мак-Канна и Тауэра [3, 4]. ГАМК, добавленная к срезам мозга кошки и крыс при pH 6.3, 7.4, 8.2, как на фосфатном, так и на карбонатном буфере лишь несколько повышала поглощение кислорода срезами коры головного мозга.

Эллиотт и ван Гелдер [7] также не подтвердили данных Цукады и сотр. [1]. В исследованиях Абадома и Шолфилда [8] ГАМК, добавленная к мозговым срезам, также оказалась не эффективной в отношении стимулирования дыхания мозговых срезов и даже несколько понижала содержание АТФ. Эллиотт и Билодо [9] вновь показали, что ГАМК весьма незначительно повышает поглощение кислорода мозговыми срезами. Исследования Лёвтрупа [10, 11] не подтвердили данных, полученных Мак-Канном и Тауэром [3, 4], в отношении окисления ГАМК в митохондриях и стимулирования ею окислительного фосфорилирования. Нами установлено [12], что ГАМК лишь немного и не достоверно повышает поглоще-

ние кислорода митохондриями мозга кроликов. Басила и сотр. [13] также установили, что ГАМК лишена активности в отношении поглощения кислорода митохондриями и гомогенатами мозга.

Данные ряда авторов, а также полученные нами результаты, ставят под сомнение то, что ГАМК сама по себе может служить эффективным субстратом для дыхания мозговой ткани.

Трудно согласиться с мнением Робертса [5] и Тауэра [3, 4], что глутамат в значительных количествах может подвергаться метаболизму через ГАМК, еще и потому, что он почти на 90% окисляется с образованием аспартата. Превращение глутамата в аспартат происходит через трансаминирование глутамата с оксалоацетатом; образовавшийся α -кетоглутарат окисляется в оксалоацетат, а последний путем трансаминирования с глутаматом переходит вновь в аспартат.

Имеются указания, что глутамат может перейти в аспартат путем декарбоксилирования у пятого углерода [14], однако другие исследования [15] не подтверждают существование этого пути превращения глутамата.

Было показано [16], что в митохондриях мозга крыс глутамат почти полностью окисляется в аспартат. Подобные результаты получили и другие исследователи. Установлено, что глутамат в сетчатке [17] и в срезах мозга крыс [18] в значительных количествах переходит в аспартат. На этом основании также было высказано мнение, что превращение глутамата в аспартат совершается трансаминированием. В пользу этого свидетельствуют и исследования [19], показавшие большое сходство специфической активности аминокислот глутамата и аспартата при метке N^{15} . Недавно вновь было подтверждено [15], что 80—90% глутамата в гомогенатах коры мозга крыс окисляется в аспартат путем трансаминирования. По этим данным, не более 8—10% глутамата может переходить в ГАМК. Об этом свидетельствует также количество $C^{14}O_2$, выделявшегося из глутамата- C^{14} в анаэробных условиях. В других опытах [18] образование ГАМК из глутамата также происходило в незначительной степени. В наших исследованиях, которые будут изложены ниже, глутамат, добавленный к срезам мозга крыс, также сильно повышал содержание аспартата; при этом количество ГАМК почти не увеличивалось.

Приведенные данные позволяют заключить, что в мозговой ткани идет преимущественное окисление глутамата в аспартат, поэтому возникает вопрос о распаде аминокислот через трансдезаминирование. В этом аспекте интересно отметить, что глутаматдегидрогеназа в мозгу проявляет слабую активность. С другой стороны, наличие кетоглутарата и аммиака в мозгу должно направлять окислительное дезаминирование глутамата в обратном направлении, т. е. образования глутамата. Ряд исследований, проведенных нами, а также данные других авторов показывают, что глутамат в мозговой ткани не может служить эффективным источником аммиакообразования.

На основании этих фактов нельзя согласиться с мнением Мак-Канна и Тауэра [3, 4] и Робертса [5], что включение глутамата через ГАМК в цикл трикарбоновых кислот может служить важным шунтовым механизмом и играть существенную роль в его окислении. Следует отметить, что декарбоксилирование глутамата многие авторы изучали в анаэробных условиях, когда его окисление в аспартат подавлено, что вряд ли отражает истинную картину обмена глутамата в целом.

Основная задача наших исследований заключалась в том, чтобы выяснить участие ГАМК в метаболизме основных энергетических источников мозговой ткани, с которым связана нервная активность и на который влияет ГАМК.

Наши предыдущие исследования [20, 21] показали, что при pH 8.2 ГАМК усиливает распад глутамата в срезах коры мозга, а при добавлении

вместе с глюкозой она усиливает эффект последней в отношении связывания аммиака, образования глутамина и аккумуляирования глутамата в мозговых срезах. В дальнейшем мы расширили эти исследования и изучали действие ГАМК на дыхание срезов коры головного мозга кошек и крыс при добавлении глюкозы, глутамата и без них. После инкубации определяли содержание глюкозы, пирувата, α -кетоглутарата, ГАМК, аланина, глутамата, аспартата, аммиака и глутамина при pH 6.4, 7.4 и 8.2 на фосфатном буфере. В этих работах принимали участие В. Б. Егян, Ю. М. Демин, С. С. Мусаелян, Г. А. Туршян, Э. Н. Осипова, В. С. Карапетян и Д. А. Акопян.

Первые исследования были проведены при pH 7.4. В этих условиях одинаково активны как глутаматдекарбоксилаза, так и ГАМК: кетоглутарат—аминотрансфераза [5]. Полученные результаты, приведенные в таблице, показывают, что при добавлении глюкозы дыхание мозговых срезов значительно возрастает. Наряду с этим повышается содержание пирувата, аланина и глутамата; содержание же ГАМК, и особенно аммиака, снижается и, что интересно, α -кетоглутарат и аспартат почти не обнаруживаются. Следует указать, что повышение содержания пирувата, глутамата и аланина с понижением количества аммиака после инкубации срезов мозга при добавлении глюкозы наблюдали многие авторы. Понижение содержания ГАМК при добавлении глюкозы по сравнению с контрольными опытами мы наблюдали и в срезах коры головного мозга кошек [6].

По литературным данным, глюкоза повышает образование $C^{14}O_2$ из меченой ГАМК [22]. В то же время глюкоза стимулирует выделение $C^{14}O_2$ из меченых глутамата и аспартата, способствуя их окислению [17, 18]. По-видимому, подобный эффект оказывает глюкоза и в отношении ГАМК.

Значительный интерес представляет резкое падение количества аспартата и α -кетоглутарата при добавлении глюкозы. Снижение содержания аспартата под действием глюкозы было установлено в нашей лаборатории [23] и одновременно другими исследователями [17, 18]; это было подтверждено и позднее [15].

Как видно из таблицы, ГАМК, добавленная к среде, особого влияния на дыхание мозговых срезов не оказывала. Несмотря на это, в течение 1 часа из добавленной ГАМК использовалось примерно 19%. Содержание аланина особым изменениям не подвергалось, содержание аспартата, аммиака и глутамата несколько понижалось; количество же пирувата и α -кетоглутарата снижалось заметно.

Привлекают внимание результаты, полученные при добавлении глюкозы и ГАМК вместе. Как явствует из приведенных данных (см. таблицу), при добавлении глюкозы и ГАМК дыхание мозговых срезов лишь несколько стимулировалось по сравнению с опытами, в которых добавляли одну глюкозу; как и при добавлении одной глюкозы, α -кетоглутарат не был обнаружен и в этом случае. В то же время в присутствии глюкозы и ГАМК более чем в 3 раза повышалось содержание аланина; также возрастало и количество глутамата, тогда как аспартата в среде почти не обнаруживалось; в срезах значительно понижалось содержание аммиака. Особый интерес представляет тот факт, что в этих условиях по сравнению с добавлением одной ГАМК более чем в 2 раза понижалось ее содержание.

Наши прежние исследования показали [20, 21], что при наличии глюкозы в аэробных условиях значительное количество ГАМК аккумуляруется в мозговых срезах. Связывание ГАМК в присутствии глюкозы было установлено и другими исследователями [7, 2]. Следует отметить, что из аккумуляированного количества ГАМК некоторая часть ее связывается более прочно с тканевыми элементами. После осаждения гомогената спиртом в осадке обнаруживаются заметные количества ГАМК, которая высвобождается при нагревании осадка. Некоторая часть ГАМК идет на образование аланина и глутамата, однако убыль ГАМК не покрывается

Действие ГАМК на поглощение кислорода и содержание некоторых метаболитов в срезах коры головного мозга белых крыс
(в мкМ на 1 г свежей ткани)

Условия опыта	Поглощение O_2	Пируват	α -кетоглутарат	ГАМК	Аланин	Глутамат	Аспарат	Амниак
Контроль.	55.5 ± 3.5 (29)	0.22 ± 0.05 (5)	0.039 ± 0.005 (5)	3.0 ± 0.11 (6)	1.6 ± 0.25 (6)	9.0 ± 0.9 (22)	13.3 ± 1.46 (25)	6.3 ± 1.7 (25)
Глюкоза.	92.6 ± 9.2 $p < 0.001$ (13)	1.46 ± 0.01 $p < 0.001$ (4)	0 $p < 0.001$ (4)	2.08 ± 0.3 $p < 0.05$ > 0.01 (5)	2.1 ± 0.07 $p < 0.01$ (3)	25.7 ± 1.83 $p < 0.001$ (3)	Следы. $p < 0.001$ (3)	3.5 ± 1.3 $p < 0.001$ (4)
Глутамат.	72.7 ± 6.5 $p < 0.001$ (22)	0.26 ± 0.03 $p < 0.2$ > 0.1 (4)	0.21 ± 0.02 $p < 0.001$ (4)	3.36 ± 0.44 $p < 0.005$ > 0.010 (9)	2.1 ± 0.16 $p < 0.01$ (6)	63 ± 5.8 (7)	25.1 ± 1.95 $p < 0.001$ (7)	5.1 ± 1.9 $p < 0.1$ > 0.2 (7)
ГАМК.	57.0 ± 5.6 $p < 0.2$ > 0.1 (22)	0.10 ± 0.01 $p < 0.002$ > 0.001 (4)	0.013 ± 0.005 $p < 0.02$ > 0.01 (6)	51.6 ± 1.36 $p < 0.010$ > 0.005 (7)	1.8 ± 0.28 $p < 0.2$ > 0.1 (7)	7.9 ± 1.12 $p < 0.10$ > 0.05 (5)	12.3 ± 1.2 $p < 0.5$ (7)	5.8 ± 2.9 $p > 0.5$ (7)
Глюкоза + глутамат.	100.8 ± 8.7 $p < 0.025$ > 0.010 (15)	1.37 ± 0.01 $p < 0.001$ (4)	0.75 ± 0.07 $p < 0.005$ > 0.001 (4)	3.34 ± 0.38 $p < 0.01$ (4)	4.06 ± 0.58 $p < 0.01$ (3)	63.0 ± 5.8 $p < 0.025$ > 0.010 (4)	14.8 ± 1.8 $p < 0.001$ (4)	3.75 ± 0.2 $p < 0.5$ (3)
Глюкоза + ГАМК.	101.4 ± 9.1 $p < 0.2$ > 0.1 (11)	1.48 ± 0.18 $p < 0.5$ (6)	0 $p < 0.001$ (6)	20.6 ± 1.92 $p < 0.01$ (3)	6.07 ± 0.7 $p < 0.01$ (3)	29.0 ± 0.6 $p < 0.4$ > 0.2 (3)	Следы. $p < 0.001$ (3)	2.2 ± 1.2 $p > 0.025$ < 0.050 (6)
Глутамат + ГАМК.	70.7 ± 7.6 $p < 0.001$ (16)	0.27 ± 0.03 $p < 0.5$ (6)	0.14 ± 0.02 $p < 0.01$ (5)	39.8 ± 1.3 $p < 0.01$ (6)	1.8 ± 0.21 $p < 0.10$ > 0.05 (6)	60.3 ± 8.1 $p < 0.001$ (3)	25.5 ± 1.0 $p < 0.001$ (3)	4.1 ± 0.6 $p > 0.01$ < 0.025 (4)
Глюкоза + глутамат + + ГАМК.	102.0 ± 6.1 $p < 0.01$ (9)	1.36 ± 0.2 $p < 0.02$ > 0.01 (4)	0.74 ± 0.06 $p < 0.005$ > 0.001 (4)	22.9 ± 1.5 $p < 0.01$ (5)	7.3 ± 1.03 $p < 0.010$ > 0.005 (3)	53.0 ± 9.9 $p < 0.005$ > 0.001 (3)	11.4 ± 2.0 $p < 0.01$ > 0.005 (3)	1.8 ± 0.6 $p > 0.005$ < 0.010 (4)

Примечание. Срезы инкубировали 1 час при 37° в фосфатном буфере при pH 7.4 [3]. Добавляли глюкозу — 15 мкМ, ГАМК и глутамат по 5.9 мкМ на 100 мг срезов. Определяли после гомогенизации срезов в инкубационной среде пируват и α -кетоглутарат спектрофотометрически [22]; глутамат и аспарат — электрофоретически; ГАМК и аланин — хроматографически; амниак — гипохлоридным или диффузионным методами. В скобках приведено количество опытов.

ее связыванием, образованием аланина, глутамата, глутамина и цитрата. Выяснение этого вопроса требует дальнейших исследований.

Следует отметить, что ГАМК несколько повышает утилизацию глюкозы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что ГАМК как бы стимулирует действие глюкозы на образование аланина, глутамата, связывание аммиака, а также, как показали наши прежние исследования [20, 21], на аккумулялирование глутамата в мозговых срезах. С другой стороны, глюкоза усиливает превращения ГАМК.

Обратимся теперь к результатам, полученным в опытах с добавлением глутамата и ГАМК. Как видно из таблицы, при рН 7.4 глутамат заметно повышал поглощение кислорода мозговыми срезами по сравнению с контрольными опытами, но как субстрат дыхания он уступал глюкозе. Подобное явление было отмечено и другими авторами [17]. При добавлении глутамата особых изменений в содержании пирувата не было отмечено, однако α -кетоглутарата образовалось при этом больше, чем в контрольных опытах. Следует отметить, что содержание ГАМК повышалось в этих опытах незначительно; более заметно увеличивалось количество аланина и значительно (почти в 2 раза) повышалась концентрация аспартата.

Итак, полученные нами данные подтверждают результаты опытов других авторов [15—18], что глутамат в мозговой ткани преимущественно окисляется в аспартат. Незначительное образование ГАМК при добавлении глутамата позволяет думать, что его декарбоксилирование не играет существенной роли в ее окислении.

Аспартат имеет существенное значение в азотистом обмене мозга: через него белковый азот включается в мочевины. Было установлено [24] участие аспартата в синтезе мочевины в мозговой ткани. Исследования, проведенные в нашей лаборатории [25], показали, что аспартат заметно усиливает образование мочевины срезами коры мозга крыс. С другой стороны, аспартат через адениловую кислоту участвует в образовании свободного аммиака в мозгу [26].

Как видно из таблицы, глутамат в наших опытах не повышал содержания аммиака, оно даже несколько снижалось; подобное явление было отмечено и при добавлении ГАМК. В наших же прежних исследованиях, в которых мы определяли аммиак после 5- и 60-минутной инкубации, при добавлении ГАМК или глутамата количество аммиака при рН 8.2 возрастало. Для выяснения этого вопроса мы стали определять содержание аммиака в различные сроки инкубации (опыты Карапетяна). Оказалось, что ГАМК в течение первых 5—15 мин. заметно снижает содержание аммиака по сравнению с контрольными пробами, затем происходит нарастание его количества, а в общем балансе содержание его не претерпевает существенных изменений.

При добавлении глюкозы и глутамата вместе дыхание мозговых срезов мозга несколько повышалось по сравнению с пробами, в которые добавляли одну глюкозу (см. таблицу). Надо отметить, что глутамат тормозил утилизацию глюкозы. Подобное явление было отмечено и в опытах других исследователей [18]. Образование пирувата несколько понижалось, а содержание α -кетоглутарата и аланина заметно возрастало, количество аспартата также повышалось, но не так сильно, как при добавлении одного глутамата. Таким образом, действие глутамата значительно отличается от действия ГАМК. Это проявляется особенно в отношении α -кетоглутарата и аспартата.

В исследованиях Хэслэма и Кребса [15] глюкоза тормозила утилизацию глутамата и образование аспартата в присутствии аденилата. Сильное понижение содержания аспартата при добавлении одной глюкозы и уменьшение ее количества, когда вместе с глюкозой добавляли и глутамат, обуславливается также большей утилизацией аспартата. Как

показали наши исследования [23], глюкоза стимулирует образование ацетиласпарагиновой кислоты. С другой стороны, образование аргинин-сукцината и аденилсукцината с участием аспартата связано с потреблением макроэргов, которые доставляются окислением глюкозы. Кроме того, глюкоза путем образования ацетата может связать оксалоацетат и тем самым подавлять его переход в аспартат. В исследованиях в нашей лаборатории, проведенных Априкьяном, ацетат понижал содержание аспартата. Подобное действие оказывал пируват и в исследованиях Хэслэма и Кребса [15].

Следует отметить, что глюкоза с ГАМК сильнее понижала содержание свободного аммиака, чем глюкоза с глутаматом.

Большое внимание привлекает то обстоятельство, что при добавлении глутамата и ГАМК количество последней заметно уменьшалось. Подобное явление было обнаружено и в наших прежних исследованиях [20, 21]. Полученные нами результаты совпадают с данными Эллиотта и ван Гелдера [7], показавших, что при добавлении ГАМК ее образование из глутамата подавляется. При этой комбинации содержание аспартата и аланина особых изменений не претерпевает, а свободного аммиака образуется меньше, чем при их раздельном добавлении.

При рассмотрении результатов исследований, в которых одновременно добавляли глюкозу, глутамат и ГАМК, бросается в глаза более выраженная утилизация глюкозы, глутамата и ГАМК и более сильное снижение содержания аммиака по сравнению с опытами, в которых прибавляли глутамат, ГАМК, глюкозу с глутаматом, глюкозу с ГАМК. Наряду с этим количество аланина возрастало при этом больше, чем в других опытах, а содержание аспартата росло меньше, чем при добавлении одного глутамата или глутамата с глюкозой. Таким образом, ГАМК с глюкозой оказывает стимулирующее воздействие на превращения глутамата, аспартата и аланина. Хотя в этих условиях поглощение кислорода срезами, а также количество пирувата и α -кетоглутарата в них не изменяются, тем не менее более значительно утилизируются глутамат и аспартат и связывается аммиак. При такой комбинации больше глутамата аккумулируется в срезах мозга и возрастает содержание глутаминна [20, 21].

Результаты исследований, проведенных нами при рН 8.2, свидетельствуют о значительном усилении дыхания при добавлении глюкозы и глутамата, что приводило к повышению содержания пирувата; количество глутамата возрастало меньше; более выраженно увеличивалось содержание аланина. Как и при рН 7.4, кетоглутарат и аспартат при добавлении глюкозы почти не обнаруживались. Аммиакообразование при рН 8.2 повышалось, а глюкоза тормозила его, хотя и меньше, чем при рН 7.4.

При рН 8.2 ГАМК расходовалась больше, причем несколько повышалось содержание аммиака, и особенно аспартата, что можно объяснить усилением процессов трансаминирования. При этом значении рН глутамат лишь немного повышал образование ГАМК (на 0.6 мкМ/г ткани) и сильно увеличивал содержание аспартата (в 2—2.5 раза). В отношении остальных процессов мы наблюдали такую же закономерность, как и при рН 7.4.

Обращает на себя внимание, что в присутствии добавленных глюкозы, ГАМК и глутамата более резко падает содержание ГАМК, аспартата и аммиака и повышается количество аланина, что мы наблюдали и при рН 7.4, т. е. и в этих условиях глюкоза, ГАМК и глутамат взаимно способствуют обоюдным превращениям.

Исследования, проведенные при рН 6.3, когда процессы трансаминирования подавлены и более выражена активность глутаматдекарбоксилазы, обращает на себя внимание значительно меньшее образование пирувата и аланина; α -кетоглутарат образуется в малом количестве только при добавлении глюкозы с глутаматом. Следует отметить, что и при рН 6.3 со-

держание ГАМК после добавления глутамата не повышалось. И в этой среде глутамат окисляется преимущественно в аспартат. Однако в таких условиях при добавлении не только одной глюкозы или глюкозы с ГАМК, но и глюкозы с глутаматом или глюкозы с ГАМК и глутаматом, аспартат обнаруживается лишь в виде следов. По-видимому, интенсивность трансаминирования с образованием аспартата уступала процессу утилизации аспартата.

Существенным и в этой серии опытов (при pH 6.3) является то, что при комбинации глюкозы с ГАМК и глутаматом утилизация как ГАМК, так и глутамата, и особенно аспартата, повышалась при сильном снижении количества аммиака.

Подытоживая результаты исследований, проведенных при pH 7.4, 8.2 и 6.3, можно заключить, что ГАМК усиливает эффект глюкозы в отношении связывания аммиака, синтеза аланина и аккумуляирования глутамата в мозговых срезах при понижении содержания аспартата. С другой стороны, глутамат, и особенно глюкоза, способствуют утилизации самой ГАМК.

Обсуждение результатов

Результаты проведенных нами исследований показывают, что ГАМК не является эффективным субстратом для дыхания мозговой ткани. Они подтверждают данные других авторов о том, что в мозговой ткани лишь незначительная часть глутамата превращается в ГАМК. Тем самым окисление глутамата через ГАМК не может играть существенной роли в его метаболизме и служить эффективным шунтовым механизмом в его превращениях. Аспартат, образовавшийся в значительных количествах из глутамата, может играть важную роль в азотистом обмене мозга — в образовании ацетиласпарагиновой кислоты, мочевины, аденилата и т. п.

Существенным является то, что ГАМК в общем котле углеводного и аминокислотного обмена играет важную роль. Она усиливает в присутствии добавленной глюкозы образование глутамата, аланина, утилизацию аспартата, связывание аммиака. Защитное действие ГАМК при аммиачной интоксикации, особенно при сочетании ее с глюкозой, наблюдали Маннинг и сотр. [27]. Более выражены эти эффекты ГАМК, когда ее добавляют вместе с глюкозой и глутаматом. При наличии глюкозы ГАМК хорошо аккумуляруется в мозговых срезах и способствует поглощению ими глутамата из среды. Стимулирующее действие ГАМК на указанные процессы связано с ее утилизацией. В этом отношении большой интерес представляет изучение взаимоотношения связанной и свободной форм ГАМК при ее использовании. Правильно отмечают Эллиотт и ван Гелдер [7], что функция ГАМК может изменяться в зависимости от того, в какой форме она находится. Недавние исследования Лавелла и Эллиотта [28] вновь подтвердили наличие связанной ГАМК. Исследования, проведенные в нашей лаборатории Мусаеляном, установили, что ГАМК может быть связана с тканевыми элементами с различной прочностью.

Каков механизм стимулирующего действия ГАМК на процессы метаболизма в мозговой ткани? Объяснить эффекты действия ГАМК одним ее участием в процессах трансаминирования не представляется возможным. Об этом свидетельствуют также другие данные, полученные в нашей лаборатории [29], согласно которым ГАМК как сама по себе, так и при добавлении глюкозы, ацетата и оксалоацетата повышает количество цитрата при инкубировании срезов и гомогенатов коры головного мозга. Стимулирующее действие ГАМК на образование цитрата нельзя объяснить только образованием из нее сукцината, так как последний, добавленный в эквимолекулярном количестве, не дает такого прироста цитрата, как ГАМК.

Среди других факторов, обуславливающих действие ГАМК и подлежащих выяснению, немаловажное значение имеет ее влияние на мембранную проницаемость. Известно, что ГАМК оказывает влияние на проницаемость нервных, в частности синаптических мембран, с чем ряд исследователей связывает тормозящее действие ГАМК на нервную активность.

На основании результатов наших прежних исследований, показавших, что ГАМК в малых количествах, подобно инсулину, усиливает поглощение глюкозы мышечной, жировой и хрящевой тканями [30—32], а в больших количествах угнетает транспорт глюкозы в мышечную ткань, мы задались целью изучить действие ГАМК в малых и больших количествах на утилизацию глюкозы митохондриями коры головного мозга крыс. Опыты, проведенные нами [33] на митохондриях коры головного мозга кроликов, показали, что ГАМК в малых количествах (0.25 мкМ/мл) значительно усиливает утилизацию глюкозы митохондриями и образование лактата и не оказывает существенного влияния на дыхание митохондрий. ГАМК в больших количествах (13 мкМ/мл), наоборот, угнетает утилизацию глюкозы.

В отношении гликолиза в митохондриях коры головного мозга имеются разноречивые данные. Ряд авторов считает, что митохондрии мозга в отличие от других органов обладают гликолитической активностью [34, 35]. По данным других авторов [36], митохондриям, выделенным из мозга крыс, не свойственна гликолитическая активность. Имеются указания, что гликолитическая активность свойственна концевым бутонам (terminal boutons) и аксоно-дендритным отросткам, которые отделяются от неочищенной митохондриальной фракции градиентным центрифугированием [37]. Следует указать, что некоторые концевые бутоны содержат митохондрии. Не исключена возможность, что гликолитическая активность митохондриальной фракции обусловлена главным образом концевыми бутонами и аксоно-дендритными отростками, которыми глюкоза в присутствии добавленной ГАМК поглощается в большем количестве. По-видимому, ГАМК в малых количествах повышает мембранную проницаемость этих частиц в отношении глюкозы, в больших — угнетает этот процесс. Вызывает интерес то, что ГАМК повышает АТФазную активность митохондрий мозга [32]. В этом отношении привлекают внимание результаты других наших исследований [12], согласно которым ГАМК разобщает окислительное фосфорилирование в митохондриях мозга, если субстратом для окисления является сукцинат. Активирование АТФазы под действием ГАМК вызывает существенный интерес в связи с наличием в мембране митохондрий контрактильного белка, подобного актомиозину [38—40], и роли АТФ и АТФазы в процессах проницаемости митохондрий и клеточных мембран. Не исключена возможность, что в торможении нервной активности под действием ГАМК в больших количествах среди других факторов может играть роль пониженная утилизация глюкозы упомянутыми выше частицами.

Из результатов других наших исследований в отношении центрального действия ГАМК вызывают интерес данные, свидетельствующие о проникновении ГАМК из крови в головной мозг. Опыты проводили на собаках. Каротидную артерию выводили в кожный лоскут, у наружной яремной вены перевязывали все ветви, кроме задне-лицевой вены, имеющей прямую связь с поперечными синусами черепа. При введении ГАМК в каротидную артерию (100—300 мг) артерио-венозная разница в содержании ГАМК через 1—5 мин. сильно возрастала (в 4—5 раз), через 15—20 мин. она исчезала. Этого не наблюдали в случае крови, взятой из других вен (V. saphena). Таким образом, проникновение ГАМК в мозг сопровождается усиленным выделением ее из мозга. В результате общее содержание ГАМК в мозгу не изменяется, что наблюдали многие исследователи при введении ГАМК в артерию или вену.

Выводы

1. γ -Аминomásляная кислота сама по себе не оказывает особого влияния на поглощение кислорода срезами коры головного мозга крыс и митохондрий мозга кролика.
2. Глутамат при pH 8.2, 7.4 и 6.3 не оказывает особого влияния на содержание ГАМК при инкубации мозговых срезов и преимущественно переходит в аспартат.
3. Глюкоза сильно уменьшает содержание аспартата в срезах головного мозга.
4. При добавлении глюкозы и ГАМК в срезах мозга усиливается образование аланина и глутамата и значительно уменьшается содержание свободного аммиака; при этом повышается утилизация ГАМК.
5. При добавлении глюкозы, ГАМК и глутамата происходит более значительное образование аланина и сильное понижение содержания аммиака и аспартата; при этом заметно повышается утилизация как глутамата, так и ГАМК; это показывает, что ГАМК активно включается в метаболизм глутамата, аспартата и глюкозы, стимулируя их превращения.
6. ГАМК стимулирует образование цитрата и понижает содержание пирувата и α -кетоглутарата.
7. ГАМК в малых количествах (0.25 мкМ/мл) значительно повышает утилизацию глюкозы митохондриальной фракцией мозга кролика и повышает образование лактата. В больших количествах (13 мкМ/мл) она значительно подавляет гликолиз.

Л и т е р а т у р а

1. Y. Tsukada, Y. Nagata a. G. Takagaki, Proc. Imp. Acad. Japan, 33, 510 (1957).
2. Y. Tsukada, S. Hirano, Y. Nagata a. T. Matsutani. In: Inhibition in the nervous system and γ -aminobutyric acid. Oxford, 163 (1960).
3. G. M. McKhann a. D. B. Tower, Am. J. Physiol., 196, 36 (1959).
4. G. M. McKhann a. D. B. Tower. In: Inhibition in the nervous system and γ -aminobutyric acid. Oxford, 169 (1960).
5. E. Roberts, M. Rothstein a. C. F. Baxter, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 97, 746 (1958).
6. В. Б. Егян и Г. А. Туршян. В сб.: Вопросы биохимии мозга, 1. Ереван, 27 (1964).
7. K. A. C. Elliott a. N. M. van Gelder, J. Neurochem., 3, 28 (1958).
8. P. N. Abadom a. P. G. Scholefield, Can. J. Biochem. Physiol., 40, 1591 (1962).
9. K. A. C. Elliott a. F. Bilodeau, Biochem. J., 84, 421 (1962).
10. S. Løvtrup, J. Neurochem., 8, 243, (1961).
11. S. Løvtrup, Acta neurol. Scand., Suppl. 1, 38, 6 (1962).
12. Г. Х. Бунятян, С. Г. Мовсесян и М. Г. Урганджян. В сб.: Вопросы биохимии мозга. Ереван, 15 (1964).
13. M. Bacila, A. P. Campello, C. H. M. Vianna a. D. O. Voss, J. Neurochem., 11, 131 (1964).
14. M. M. Cohen, G. R. Simon, J. F. Berry a. E. B. Chain, Biochem. J., 84, 43 (1962).
15. B. J. Haslam a. H. A. Krebs, Biochem. J., 88, 566 (1963).
16. H. A. Krebs a. D. Bellamy, Biochem. J., 75, 523 (1960).
17. E. B. Chain, F. Rocchiari a. H. W. Reading, Proc. Roy. Soc., Ser. B., 156, 144 (1962).
18. O. Z. Sellinger, R. Catanzaro, E. Chain, a. F. Rocchiari, Proc. Roy. Soc., Ser. B., 156, 148 (1962).
19. E. B. Chain, M. Chiozzotto, F. Rocchiari, C. Rossi a. R. Sandman, Proc. Roy. Soc., Ser. B., 152, 290 (1960).
20. H. Ch. Buniatian, J. Neurochem., 10, 461 (1963).
21. Г. Х. Бунятян. В сб.: Третья Всесоюзная конференция по биохимии нервной системы. Ереван, 133 (1963).
22. У. С. Тарве. В сб.: Третья Всесоюзная конференция по биохимии нервной системы. Ереван, 271 (1963).

23. Г. В. Априкян, ДАН АрмССР, 35, 213 (1962).
 24. S. Ratner, H. Morell a. E. Carvalho, Arch. Biochem. Biophys., 91, 280 (1960).
 25. Г. Х. Бунятыян и М. А. Давтян. В сб.: Вопросы биохимии мозга, 1. Ереван, 97, 105 (1964).
 26. П. А. Кометиани. Первый Всесоюзн. биохим. съезд, янв. 1964 г., Тез. докл., 1, М.—Л., 114 (1963).
 27. R. T. Manning, D. Thorning a. I. Falleta, Nature, 202, 89 (1964).
 28. R. A. Lovell a. K. A. C. Elliott, J. Neurochem., 10, 479 (1963).
 29. Г. Х. Бунятыян и Д. М. Геворкян. В сб.: Вопросы биохимии мозга, 1, Ереван, 33 (1964).
 30. Г. Х. Бунятыян, Вопросы биохимии, 1, Ереван, 197 (1960).
 31. H. Ch. Buniatian. Studies of the role of γ -aminobutyric acid in carbohydrate metabolism. Erevan (1961).
 32. С. Г. Мовсисян, Вопросы биохимии, 2, Ереван, 87 (1961).
 33. С. Г. Мовсисян и М. Г. Урганджян. В сб.: Вопросы биохимии мозга, 1. Ереван, 87 (1964).
 34. M. L. Hasselbach a. H. G. DuBuy, Proc. Exptl. Biol., 83, 62 (1963).
 35. C. H. Gallagher, J. D. Indah a. K. R. Rees, Biochem. J., 62, 436 (1956).
 36. Ryo Tanaka a. L. G. Abood, J. Neurochem., 19, 571 (1963).
 37. A. A. Abdel-Latif a. L. G. Abood, J. Neurochem., 11, 9 (1964).
 38. T. Ohnishi a. T. Ohnishi, J. Biochem., 51, 380 (1962).
 39. S. A. Neifakh a. T. B. Казакова, Nature, 197, 1106 (1963).
 40. Т. Б. Казакова и С. А. Нейфах, ДАН СССР, 152, 471 (1963).
-

ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА АДСОРБЦИЮ γ -АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ СРЕЗАМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

В. Н. Чикваидзе

Институт физиологии Академии наук Грузинской ССР, Тбилиси

Р III
23/86

Срезы головного мозга в отличие от срезов других органов в присутствии глюкозы [1, 2] и хлористого натрия [3] в аэробных условиях могут адсорбировать γ -аминомасляную кислоту (ГАМК) из инкубационной среды [2, 4, 5].

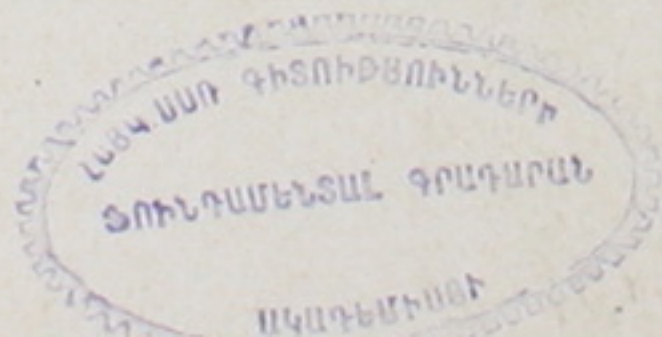
Перед нами была поставлена задача изучить влияние возбуждающих и тормозящих фармакологических веществ на способность препаратов коры головного мозга адсорбировать ГАМК из внешней среды. Параллельно были поставлены опыты по изучению влияния фармакологических веществ на величину потребления кислорода срезами коры головного мозга. Величину адсорбции ГАМК срезами коры головного мозга крыс определяли методом Эллиотта и ван Гелдера [4], потребление кислорода манометрически в аппарате Варбурга [6]. Фармакологические вещества или предварительно вводили животным, или их добавляли в инкубационную среду к срезам головного мозга нормального животного.

Полученные данные и обсуждение результатов

Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что при предварительном введении животным нембутал, аминазин, хлоралгидрат и фенамин отрицательно влияли на величину адсорбции ГАМК срезами мозга, тогда как семикарбазид, метразол и меджемид не оказывали какого-либо эффекта.

В опытах, в которых фармакологические вещества добавляли непосредственно в инкубационную среду в относительно больших концентрациях, отрицательное влияние соответствующих агентов на адсорбцию ГАМК было выражено гораздо сильнее (табл. 2). При добавлении же их в концентрации 1 мМ все использованные нами вещества, за исключением аминазина, оказывали положительное влияние на адсорбцию ГАМК срезами головного мозга (табл. 3).

В опытах Эрстинга и сотр. [7] из 26 исследованных ими веществ только аминазин, фенотиазин, имипрамин и орфенадрин тормозили адсорбцию ГАМК. Ими было показано отрицательное влияние аминазина также и на потребление кислорода тканью мозга. Отсюда они заключают, что вещества, тормозящие адсорбцию, должны оказывать отрицательное влияние на дыхание клетки.



{20x}

iii
2318