

УДК 591.35

БИОХИМИЯ

Г. В. Априкян, В. А. Шагинян и Ж. А. Паронян

**О роли глутаминовой кислоты в энергетическом обмене и  
 аммиакообразовании в митохондриях мозга белых крыс  
 в зависимости от возраста**

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятыном 28/XI 1969)

В наших исследованиях было показано, что глутаминовая кислота (ГК) в гомогенатах <sup>(1)</sup> и митохондриях <sup>(2)</sup> мозга играет важную роль в обеспечении энергетических потребностей мозговой ткани в течение первого месяца постнатальной жизни белых крыс—периода бурного морфо-функционального созревания головного мозга. Наряду с этим в указанном периоде наблюдаются заметные сдвиги в аммиакообразовательной функции гомогенатов <sup>(3)</sup> и митохондрий мозга <sup>(4)</sup>. Сопоставление данных по утилизации ГК и степени ее превращения в аспарагиновую кислоту (АК) у животных различных возрастных групп с данными, касающимися интенсивности аммиакообразования из эндогенных источников, позволило нам высказать предположение о возрастающей роли ГК в аммиакообразовательной функции мозговой ткани в постнатальном периоде развития. В настоящем сообщении приводятся некоторые результаты, подтверждающие указанное предположение.

Опыты были поставлены на новорожденных, 10-, 21-, 90-, 360- и 720-дневных белых крысах, содержащихся на обычной лабораторной диете. Промытую митохондриальную фракцию мозга получали по ранее описанной методике <sup>(5)</sup> и инкубировали в специально подобранном нами К-фосфатном буфере. Для каждой пробы использовали такое количество митохондриальной фракции, которое соответствовало 500 мг свежей ткани мозга. ГК, АДФ и малонат добавляли к реакционной смеси соответственно 10, 2 и 20 мМ в конечной концентрации. Инкубацию проводили в атмосфере кислорода при 37° в течение 40 минут. Данные выражали в мкмольх/г свежей ткани/40 минут. Аминокислоты определяли методом электрофореза на бумаге <sup>(6)</sup>, аммиак и глутамин—микродиффузионным методом Зелигсона в модификации Силаковой <sup>(7)</sup>, а поглощение кислорода—по манометрическому методу Варбурга.

Результаты исследований показали, что в расчете на 1 г свежей ткани мозга из имеющихся в среднем 34 мкмоль добавленной ГК (данные в таблицах не приведены) в отсутствие АДФ утилизируется незначительная ее часть, о чем можно судить по убыли ГК у годовалых и старых (720 дней) крыс (табл. 1, столбец 1), интенсивности образования АК (столбец 2) и поглощения  $O_2$  (столбец 8). Наибольшее образование АК при утилизации добавленной ГК без АДФ наблюдается у 21-дневных и половозрелых (90 дней) животных и составляет не более 13% от добавленной ГК. Данные таблицы 1 (столбец 7) показывают, что из добавленной одной ГК на всем протяжении развития животных в митохондриях мозга не наблюдается образования аммиака.

Таблица 1

Возрастные особенности утилизации глутамата, образования аммиака, аспартата и поглощения кислорода в митохондриальной фракции мозга белых крыс в присутствии добавленного глутамата (количество в мкмоль/г свежей ткани/40 мин.)

Возраст, дни	Аминокислоты и глутамин				Аммиак и глутамин			Поглощение кислорода
	ГК	АК	глутамин	разница	аммиак	глутамин	сумма	
	1	2	3	4	5	6	7	
1	—	-1,66 (5)	+0,30 (7)	—	-0,04 (8)	+0,30 (7)	+0,26	+1,24 (5)
10	—	-5,41 (6)	+0,37 (11)	—	+0,32 (15)	-0,37 (11)	+0,05	+3,45 (6)
21	—	-4,56 (7)	+0,81 (12)	—	-0,56 (13)	+0,81 (12)	+0,25	+3,29 (8)
90	—	+4,47 (6)	-0,48 (12)	—	-0,46 (6)	-0,48 (12)	+0,02	+3,46 (6)
360	-6,69 (4)	+2,96 (4)	+0,17 (4)	-3,56	+0,04 (4)	-0,17 (4)	+0,21	+3,12 (4)
720	-5,05 (4)	+2,64 (3)	-0,10 (4)	-2,30	+1,01 (4)	+0,0 (4)	+0,11	+3,32 (4)

Картина резко меняется при добавлении к инкубационной среде АДФ (табл. 2). При этом утилизация ГК (столбец 1) и образование из нее АК (столбец 2) потенцируются в весьма высокой степени. Достаточно указать, что из имеющихся 34 мкмоль ГК митохондриями за 40 минут утилизируется до 70% и утилизированная ГК, в зависимости от возраста, от 67 до 99% превращается в АК. Интенсивность образования АК в присутствии АДФ, в зависимости от возраста, увеличивается в 3,5—5,4 раза (сравнение данных столбцов 2 табл. 1 и 2). Наряду с усилением утилизации ГК и образования АК в присутствии АДФ значительно усиливается и поглощение  $O_2$  митохондриями (столбцы 3 табл. 1 и 2).

Следует отметить, что интенсивность утилизации ГК и переход ее в

АК в присутствии АДФ заметно усиливаются до трехнедельного возраста, а в период старения, наоборот, снижаются.

Существенно подчеркнуть, что при совместном использовании ГК и АДФ происходит заметное образование аммиака из ГК (столбец 7, табл. 2), а в отсутствие АДФ этого не наблюдается (столбец 7, табл. 1). Интенсивность образования аммиака из ГК значительно усиливается до трехнедельного возраста, а в период старения несколько снижается. Как видно из табл. 2 (столбец 6), часть образовавшегося аммиака используется для синтеза глутамина, чего не наблюдается у половозрелых и новорожденных животных.

Таблица 2

Возрастные особенности утилизации глутамата, образования аспартата, аммиака и поглощения кислорода в митохондриальной фракции мозга белых крыс в присутствии добавленного глутамата и АДФ (количество  $\mu\text{моль/g}$  свежей ткани 10 мин.)

Возраст, дни	Аминокислоты и глутамин				Аммиак и глутамин			Поглощение кислорода
	ГК	АК	глутамин	разница	аммиак	глутамин	сумма	
	1	2	3	4	5	6	7	
1	-8,98 (11)	+8,96 (9)	-0,11 (10)	-0,13	+0,25 (10)	-0,11 (10)	+0,14	-10,26 (12)
10	-19,21 (8)	+14,48 (10)	-0,60 (11)	-4,13	+0,88 (9)	+0,60 (11)	+1,48	+21,68 (9)
21	-24,62 (11)	+18,60 (11)	+0,80 (15)	-5,22	-1,51 (13)	+0,80 (15)	+2,31	+27,14 (14)
90	-22,16 (7)	+15,60 (9)	+0,03 (7)	-6,53	+1,18 (11)	-0,03 (7)	+1,91	-30,58 (9)
360	-21,7 (13)	+14,46 (13)	+0,82 (13)	-6,42	+1,09 (12)	+0,82 (13)	+1,90	-22,0 (9)
720	-16,77 (12)	+10,75 (12)	+0,75 (9)	-5,27	-0,90 (10)	-0,75 (9)	+1,65	+15,72 (8)

Данные относительно стимуляции перехода ГК в АК со стороны АДФ у взрослых животных согласуются с результатами других авторов (7,8) и в основном объясняются тем, что АДФ усиливает генерацию щавелево-уксусной кислоты и тем самым создает благоприятные условия для перехода ГК в АК (8). Наши исследования показывают, что на протяжении всего периода развития животных АДФ играет важную роль в обеспечении интенсивного метаболизма ГК.

Для выяснения механизма образования аммиака из ГК в присутствии АДФ в следующей серии опытов мы использовали малонат, который, как известно, является весьма эффективным ингибитором перехода ГК в АК. Оказалось, что малонат с ГК без АДФ у годовалых и старых крыс заметно подавляет утилизацию ГК и образование АК (стол-

бцы 1, 2 табл. 1 и 3), при этом наблюдается лишь незначительная продукция аммиака (столбцы 7 табл. 1 и 3).

При совместном применении ГК, АДФ и малоната утилизация ГК, образование АК и поглощение  $O_2$  подавляются в весьма высокой степени (сравнение столбцов 1, 2 и 8 табл. 2 и 4), в зависимости от возраста, в среднем соответственно в 2,5—5,3; 4,2—7,4 и 8—16 раза. Детальное рассмотрение данных табл. 2 и 4 показывает, что чувствительности указанных метаболических процессов к малонату усиливается до половой зрелости (90 дней), а в период старения заметно снижается.

Таблица 3

Возрастные особенности утилизации глутамата, образования аспартата, аммиака и поглощения кислорода в митохондриальной фракции мозга белых крыс в присутствии добавленного глутамата и малоната (количество в  $\mu\text{м.моль/г}$  свежей ткани/40 мин.)

Возраст, дни	Аминокислоты и глутамин				Аммиак и глутамин			Поглощение кислорода
	ГК	АК	глутамин	разница	аммиак	глутамин	сумма	
	1	2	3	4	5	6	7	
360	-4,40 (4)	+1,14 (4)	+0,09 (4)	-3,17	+0,35 (1)	+0,09 (4)	+0,44	+1,85 (4)
720	-3,69 (4)	+1,29 (4)	+0,01 (4)	-2,39	+0,26 (4)	+0,01 (4)	+0,27	+1,17 (4)

Важным моментом здесь является тот факт, что, несмотря на строгий ингибирующий эффект малоната на утилизацию ГК и перехода ее в АК, интенсивность образования аммиака из ГК подавляется лишь у 21—90-дневных и годовалых крыс соответственно на 30,3, 18,8% и 16,8%, у старых вовсе не меняется, а у новорожденных, наоборот, наблюдается заметное продуцирование аммиака (столбцы 7 табл. 2 и 4).

Механизм образования аммиака из ГК в присутствии АДФ остается окончательно невыясненным. У новорожденных животных заметное образование аммиака из ГК в присутствии АДФ происходит только при наличии малоната.

Полученные результаты показывают, что под действием малоната продукция аммиака из ГК в присутствии АДФ несколько усиливается и у 10-дневных крыс, между тем как у 21-дневных она значительно снижается, и это явление в менее выраженной степени отмечается у половозрелых и годовалых крыс, а у старых продукция аммиака продолжается с той же интенсивностью. Образование аммиака в присутствии малоната по всей вероятности объясняется окислительным деаминарованием ГК.

В механизме образования аммиака из ГК придается определенное значение реаминированию ИДФ с АК, которая интенсивно образуется из ГК (<sup>10</sup>). В отношении образования ИДФ из АДФ и выяснения степе-

ни участия АДФ в образовании аммиака из АК необходимы дальнейшие исследования. Не исключена возможность, что АДФ как эффектор глутаматдегидрогеназы (11) усиливает образование аммиака из ГК путем ее окислительного деаминирования. В пользу данного предположения говорит тот факт, что без АДФ в присутствии малоната у годовалых и старых животных наблюдается незначительное образование аммиака из ГК (столбец 7 табл. 3), тогда как обогащение реакционной среды АДФ приводит к интенсивному образованию аммиака из ГК (столбец 7, табл. 4).

Таблица 4

Возрастные особенности утилизации глутамата, образования аспартата, аммиака и поглощения кислорода в митохондриальной фракции мозга белых крыс в присутствии добавленного глутамата, малоната и АДФ (количество мкмоль г свежей ткани 40 мин.)

Возраст, дни	Аминокислоты и глутамин				Аммиак и глутамин			Поглощение кислорода
	ГК	АК	глутамин	разница	аммиак	глутамин	сумма	
	1	2	3	4	5	6	7	
1	-3,21 (9)	+1,61 (8)	+0,06 (5)	-1,51	+1,10 (8)	+0,06 (5)	-1,16	+1,26 (2)
10	-4,63 (18)	+2,07 (10)	+0,83 (15)	-1,73	+1,02 (11)	+0,83 (15)	+1,85	+1,65 (14)
21	-5,28 (16)	+2,55 (10)	+1,27 (10)	-1,46	+0,34 (10)	-0,34 (10)	+1,61	+2,68 (13)
90	-4,15 (12)	+2,12 (10)	+0,44 (7)	-1,59	+1,11 (13)	+0,44 (7)	+1,55	+1,87 (23)
360	-5,05 (11)	+2,19 (12)	+0,29 (12)	-2,57	+1,29 (12)	+0,29 (12)	+1,58	+2,95 (8)
720	-6,70 (12)	+2,55 (12)	+0,79 (9)	-3,36	+0,92 (9)	+0,79 (9)	-1,71	+2,16 (6)

Потенцирующий эффект АДФ на образование аммиака из ГК в присутствии малоната выражен гораздо сильнее в митохондриях печени белых крыс (неопубликованные данные), что обуславливается наличием в печеночной ткани значительно более активной глутаматдегидрогеназы (12).

Институт биохимии  
Академии наук Армянской ССР

Գ. Վ. ԱՊՐԻԿՅԱՆ, Վ. Ա. ՇԱԼԻՆՅԱՆ, Ժ. Ա. ՊԱՐՈՆՅԱՆ

Ինտուսիվնարրվի դերը սպիտակ առնետների ուղեղի միտոխոնդրիաներում  
լեւեղեաթիկ փոխանակության և ամոնիակի առաջացման մեջ՝ կախված  
հասակից

Ներկա աշխատանքում ցույց է տրված, որ ուղեղային հյուսվածքի մտքո-ֆունկցիոնալ մեթաբոլիզմի ընթացքում երա (լեւեղեաթիկ) պահանջների ապահովման գործում կարեւոր դեր է խաղում

գլուտամինաթթուի (ԳՔ) ԳՔ-ն ինքին բոլոր նստակներում շատ քիչ է յուրացվում և ամոնիակի ազրյուր չի ծառայում: Ադենոզին դիֆոսֆատը (ԱԴՖ) նորածին նստակից սկսած մինչև մերոսթյան շրջանը մեծ չափով խթանում է ԳՔ-ի յուրացումը: Ծույց է տրված, որ ԱԴՖ-ը իրեն գլուտամատոզի իդրոզենազայի ալլոստերիկ ակտիվատոր խթանում է ԳՔ-ից ամոնիակի առկայությամբ, որը նստակին գուրեթե զգալի ուժեղանում է:

#### Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ր Ա Շ Ի Կ Ե Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

- <sup>1</sup> Գ. Վ. Արիկյան և Զ. Ա. Փարոնյան, Вопросы биохимии мозга, изд. АН АрмССР, т. 2, 32, 1966 <sup>2</sup> Գ. Վ. Արիկյան և Զ. Ա. Փարոնյան, Вопросы биохимии мозга, изд. АН АрмССР, т. 3, 67, 1967 <sup>3</sup> Գ. Խ. Բунյաթյան, Գ. Վ. Արիկյան, Վ. Ա. Շագինյան, Ս. Մ. Ներսիսյան, Вопросы биохимии мозга, изд. АН АрмССР, т. 5, 35, 1969. <sup>4</sup> Ս. Ա. Շագինյան, Գ. Վ. Արիկյան և Գ. Խ. Բунյաթյան, Вопросы биохимии мозга, Изд. АН АрмССР, т. 5, 27, 1969. <sup>5</sup> Գ. Վ. Արիկյան և Վ. Ա. Շագինյան, Вопросы биохимии мозга, Изд. АН АрмССР, 5, 17, 1969. <sup>6</sup> W. Grassmann, K. Hanning, B. M. Plochl, Z. Physiol. Chem. 299, 258, 1958. <sup>7</sup> Ա. Մ. Տուրախով, Գ. Ս. Կոլոմոյցևա և Ա. Յակովևա, Вопр. мед. химии, 5, 538, 1962. <sup>8</sup> R. Valasz, Biochem. J. 95, 497, 1965. <sup>9</sup> Բ. Գ. Կամալյան, Диссертация, 1965 г. <sup>10</sup> Գ. Խ. Բунյաթյան և Ա. Վ. Արտյունյան, Вопросы биохимии мозга, Изд. АН Арм. ССР, 1, 29, 1968. <sup>11</sup> C. Frieden, J. Biol. Chem., 238, 3286, 1963. <sup>12</sup> C. Frieden, J. Biol. Chem., 240, 2028, 1965.