

УДК 547.485.6 : 591.481.1. «712.92»

БИОХИМИЯ

Г. Г. Бунятян

Окисление и восстановительное аминирование
 α -кетоглутаровой кислоты в митохондриях мозга белых
крыс при старении в присутствии АДФ

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР А. А. Галояном 9/II 1976)

В наших предыдущих исследованиях (¹) было показано, что даже при создании оптимальных условий для процесса восстановительного аминирования α -кетоглутаровой кислоты (в опытах с добавлением аммиака и АДФ) она, тем не менее, в основном подвергается окислению. Кроме этого, отмечалось, что добавление аммиака значительно повышает дыхание митохондриальной фракции (МФ) в присутствии α -кетоглутаровой кислоты (α -КГ) и АДФ (¹). В связи с этим, представляло определенный интерес изучение процессов окисления и восстановительного аминирования α -КГ за счет эндогенного аммиака в присутствии АДФ.

Исследования проводили на МФ мозга 6-месячных, годовалых и 2-летних (старых) белых крыс. Интенсивность окисления α -КГ определяли манометрическим методом Варбурга, суммарный аммиак (свободный аммиак+амидоазот глутамина)—видоизмененным микрометодом Зелигсона (^{2,3}), а содержание глутаминовой кислоты (ГК)—методом электрофореза на бумаге (^{4,5}). α -КГ и АДФ использовали в конечной концентрации 10 мМ и 2 мМ.

Как видно из табл. 1, АДФ не оказывает существенного влияния на дыхательную активность МФ. При использовании в качестве субстрата окисления α -КГ поглощение кислорода МФ заметно усиливается, однако в старческом возрасте оно менее выражено. АДФ значительно стимулирует окисления α -КГ у животных всех возрастных групп. Но и в этом случае эффект АДФ менее выражен у старых животных. Так, уровень потребления кислорода у 6-месячных, годовалых и 2-летних крыс составляет 11,7; 9,35 и 8,33 мкмоль O_2 соответственно.

В следующей серии экспериментов, результаты которых приведены в табл. 2, изучена интенсивность реакции восстановительного аминирования α -КГ в отсутствие добавленного аммиака в МФ мозга крыс указанных возрастных групп. Приведенные результаты подтверждают

полученные нами ранее данные ⁽⁶⁾ относительно снижения способности МФ к образованию аммиака из эндогенных источников в мозгу старых животных. АДФ сам по себе несколько увеличивает продукцию аммиака у животных всех возрастных групп, в пределах 0,8 мкмоль/г

Таблица 1

Действие АДФ на интенсивность окисления α -КГ (мкмоль O_2 /г свежей ткани 30 минут) в МФ мозга белых крыс 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	6.92 ± 0.32 (12)	7.09 ± 0.36 (12)	+0.17	11.52 ± 0.4 (12)	+4.6	18.79 ± 0.57 (16)	+11.7
1 год	7.65 ± 0.18 $p > 0.05$ (12)	7.57 ± 0.27 $p > 0.1$ (12)	-0.08	12.05 ± 0.34 $p > 0.1$ (12)	+4.4	16.92 ± 0.24 $p < 0.01$ (16)	+9.35
2 года	6.54 ± 0.92 $p > 0.05$ (12)	6.47 ± 0.23 $p < 0.01$ (12)	-0.07	10.46 ± 0.31 $p < 0.01$ (9)	+3.92	14.8 ± 0.58 $p < 0.005$ (12)	+8.33

свежей ткани. Добавление одной α -КГ приводит к некоторому, а ее сочетание с АДФ—к более выраженному снижению уровня аммиака в течение всего исследуемого периода постнатального развития. Так, если у 6-месячных, годовалых и 2-летних животных количество аммиака, использованное на восстановительное аминирование α -КГ, в отсутствие АДФ составляет соответственно: 0,54; 0,55 и 0,5 мкмоль, то в его присутствии—0,8; 0,72 и 0,86 мкмоль.

Убыль аммиака в опытах с α -КГ и особенно с α -КГ+АДФ можно объяснить вовлечением эндогенного аммиака в синтез ГК однако, как видно из приведенных данных, это уменьшение происходит в незначительных количествах и без заметных возрастных изменений. Об этом свидетельствуют результаты наших исследований по образованию ГК (табл. 3). В опытах с α -КГ+АДФ уровень ГК по сравнению с пробами, где присутствует один АДФ, несколько повышается, особенно в 6-месячном и годовалом возрасте, однако примерно тот же уровень ГК сохраняется и в опытах с одной α -КГ. Эти данные свидетельствуют о том, что, по-видимому, образование ГК из α -КГ в отсутствие добавленного аммиака происходит с незначительной интенсивностью, при этом АДФ не оказывает существенного влияния на этот процесс.

Приведенные данные показывают, что эндогенная ГК, как и в прежних наших исследованиях ⁽⁷⁾, при инкубации МФ утилизируется в заметных количествах. В старческом возрасте уровень ГК в митохондриях несколько снижается и ее утилизация менее выражена. АДФ сам по себе не оказывает особого действия на уровень ГК, отмечается лишь незначительное уменьшение ее содержания. При добавлении α -КГ

Таблица 2

Действие АДФ на интенсивность восстановительного аминирования α -КГ за счет эндогенного аммиака (мкмоль азота суммарного аммиака/г свежей ткани/40 минут) в МФ мозга 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	0,88	2,57	+1,69	3,45	+0,88	2,03	-0,54	2,65	-0,8
	$\pm 0,06$ (9)	$\pm 0,12$ (9)		$\pm 0,06$ (9)		$\pm 0,11$ (9)		$\pm 0,1$ (9)	
1 год	0,96	2,44	+1,48	3,32	+0,88	1,89	-0,55	2,6	-0,72
	$\pm 0,12$ $p > 0,1$ (9)	$\pm 0,88$ $p > 0,1$ (9)		$\pm 0,04$ $p > 0,1$ (9)		$\pm 0,13$ $p > 0,1$ (9)		$\pm 0,12$ $p > 0,1$ (9)	
2 года	0,93	2,0	+1,07	2,81	+0,81	1,5	-0,5	1,95	-0,86
	$\pm 0,1$ $p > 0,1$ (9)	$\pm 0,09$ $p < 0,01$ (12)		$\pm 0,09$ $p < 0,001$ (12)		$\pm 0,06$ $p < 0,025$ (12)		$\pm 0,08$ $p < 0,005$ (12)	

Таблица 3

Действие АДФ на синтез ГК (мкмоль/г свежей ткани/40 минут) путем восстановительного аминирования α -КГ за счет эндогенного аммиака в МФ мозга 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	1,6	0,56	-1,04	0,46	-0,1	1,06	+0,5	1,12	+0,66
	$\pm 0,07$ (16)	$\pm 0,03$ (16)		$\pm 0,02$ (16)		$\pm 0,06$ (12)		$\pm 0,04$ (12)	
1 год	1,73	0,66	-1,07	0,51	-0,26	1,24	+0,58	1,2	+0,69
	$\pm 0,08$ $p > 0,1$ (16)	$\pm 0,03$ $p < 0,05$ (16)		$\pm 0,03$ $p > 0,1$ (16)		$\pm 0,05$ $p < 0,05$ (16)		$\pm 0,05$ $p > 0,1$ (16)	
2 года	1,38	0,64	-0,74	0,5	-0,1	1,07	+0,43	1,08	+0,58
	$\pm 0,06$ $p < 0,005$ (16)	$\pm 0,03$ $p > 0,1$ (16)		$\pm 0,01$ $p > 0,05$ (16)		$\pm 0,04$ $p < 0,025$ (16)		$\pm 0,05$ $p > 0,05$ (16)	

уровень ГК заметно повышается, это явление менее выражено в старческом возрасте (табл. 3).

Таким образом, регулирующее действие АДФ на окисление и восстановительное аминирование α -КГ особенно проявляется при нагрузках—добавлении α -КГ и аммиака (¹). В старческом возрасте отмечается заметное снижение эффекта АДФ на эти процессы. Приведенные данные и результаты, полученные нами ранее (¹), позволяют заключить, что АДФ имеет важное значение не только в регуляции окислительного деаминирования ГК (⁶), но и в окислительных превращениях α -КГ и ее восстановительном аминировании, что особенно важно в старческом возрасте, когда интенсивность метаболических процессов заметно снижается.

Институт биохимии

Академии наук Армянской ССР

Գ. 2. ԲՈՒՆՑԱԹՅԱՆ

α -կետոգլուտարաթթվի օքսիդացումը և նրա ամինացումը սպիտակ առնետների ուղեղի միտոկոնդրիաներում ծերացման ժամանակ ԱԴՖ-ի ներկայությամբ

ԱԴՖ-ն զգալի չափով խթանում է α -կետոգլուտարաթթվի (α -ԿԳ) օքսիդացումը և նրա ամինացումը լեց ամսական, մեկ տարեկան և երկու տարեկան (ծեր) սպիտակ առնետների ուղեղի միտոքոնդրիալ ֆրակցիայում ամոնիակի էնդոգեն քանակների դեպքում:

Բերված տվյալները թույլ են տալիս եզրակացնելու, որ ԱԴՖ-ն ունի էական նշանակություն α -ԿԳ-ի փոխանակության մեջ ուղեղի միտոքոնդրիաներում՝ հատկապես ծեր հասակում, երբ նյութափոխանակության պրոցեսների ակտիվությունը նկատելիորեն նվազում է:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ В. А. Шагинян, Г. Г. Бунятян и Г. В. Априкян, ДАН Арм. ССР, т. LXII, №3 (1976)
² D. Sellgson, H. Sellgson, J. Lab. Clin. Med., 38, 324 (1951). ³ А. И. Силакова, Г. П. Труш и А. Явилякова, Вопросы медицинской химии, 5, 538 (1962). ⁴ W. Grassmann, E. Hanning and M. Plöckl, Zeit. Physiol Chem., 299, 258, 1955. ⁵ Г. Х. Бунятян и Г. В. Априкян, Вопросы биохимии, изд. АН Арм. ССР, 2, 5 (1961). ⁶ Г. В. Априкян и В. А. Шагинян, Вопросы биохимии мозга, изд. АН Арм. ССР, 8, 91 (1973). ⁷ Г. В. Априкян, Г. Х. Бунятян и В. А. Шагинян, Вопросы биохимии мозга, изд. АН Арм. ССР, 6, 67 (1970).