

А. А. ПАПЯН

АМИДНЫЕ ГРУППЫ БЕЛКОВ МОЗГА ПРИ УМИРАНИИ И ОЖИВЛЕНИИ ОРГАНИЗМА

С целью выяснения роли амидных групп белков мозга в процессах аммиакообразования при терминальных состояниях и в восстановительном периоде после оживления организма изучалось содержание легкогидролизуемых, трудногидролизуемых и суммарных амидных групп белков мозга. Пробы мозга извлекались на фоне морфин-эфирного наркоза, во время агонии, в конце 1-, 5- и 10-й минут клинической смерти, а также через 1 и 24 часа после оживления организма.

Выяснилось, что одним из источников аммиака в мозговой ткани при терминальных состояниях и особенно в постреанимационном периоде являются легкогидролизуемые амидные группы белков, содержание которых резко уменьшается при вышеуказанных состояниях.

В последние годы накоплено значительное количество фактов относительно биохимических сдвигов в головном мозгу при терминальных состояниях и в восстановительном периоде после оживления организма [5, 10, 13 и др.]. Однако, несмотря на многочисленные исследования в этой области, вопросы азотистого обмена в настоящее время остаются недостаточно изученными. В предыдущих исследованиях мы изучали изменения в содержании аммиака и глутамина при умирании и в восстановительном периоде после оживления организма и пришли к выводу, что глутамин не является единственным источником аммиакообразования при терминальных состояниях и особенно в постреанимационном периоде.

В последние годы обнаружено, что существенную роль в образовании и утилизации аммиака как *in vivo*, так и *in vitro* играют амидные группы белков. Р. Врба с сотр. [4] установили, что при инкубировании срезов коры головного мозга в фосфатном буфере Кребса-Рингера примерно 1/4 часть аммиака образуется за счет амидных групп белков. Именно поэтому нас заинтересовала роль амидных групп белков мозга в процессах аммиакообразования при умирании и оживлении организма.

Амидные группы белков мозга представляют собой весьма лабильные функциональные группы, принадлежащие глутамину и аспарагину, уровень которых подвергается изменениям при самых различных воздействиях и зависит от активности центральной нервной системы. Амидирование и дезамидирование белков—ферментативный процесс. В настоящее время доказано, что все ферментативные процессы сосредоточены в определенных субклеточных структурах. В лаборатории Г. Х. Бунятыана установлено, что амидные группы белков мозга синтезируются в

триалоплазме под действием фермента, отличающегося по своим свойствам от глутаминсинтетазы [1].

Цель настоящего исследования—изучение количественных и качественных изменений со стороны амидных групп белков в головном мозгу при терминальных состояниях и после оживления организма. Эксперименты ставились на 30 собаках. Смерть вызывалась острым кровопусканием из бедренной артерии. Оживление производилось по комплексному методу В. А. Неговского. Пробы мозга извлекались на фоне морфин-эфирного наркоза, во время агонии, в конце 1-, 5- и 10-й минут клинической смерти, а также через 1 и 24 часа после оживления организма и сразу же после взятия фиксировались в жидком азоте. Определялись легкогидролизуемые, трудногидролизуемые и суммарные амидные группы белков. Гидролиз производили кипячением в 1*n* растворе серной кислоты в течение 10 мин—для определения лабильных и двух часов—для определения стабильных амидных групп. Концентрацию азота в центрифугате определяли методом микродиффузионной перегонки Зелигсона [16] в модификации А. И. Силаковой и сотр. [11]. Количество амидных групп белка выражали в мг% азота на влажный вес ткани.

Результаты проведенных исследований показывают, что на фоне морфин-эфирного наркоза содержание легкогидролизуемых амидных групп в головном мозгу составляет $19,75 \pm 1,104$ мг% азота на влажный вес ткани, трудногидролизуемых амидных групп— $44,45 \pm 1,017$ мг%, суммарных амидных групп— $64,2 \pm 1,945$ мг%. Уже во время агонии отмечается тенденция к уменьшению количества лабильных амидных групп и незначительное увеличение стабильных амидных групп белков мозга (таблица). В дальнейшем указанные изменения нарастают, и на 5-й минуте клинической смерти содержание их соответственно составляет $13,37 \pm 1,06$ и $58,36 \pm 3,174$ мг% азота аммиака. Суммарный амидо-азот достоверно увеличивается по сравнению с исходным фоном и составляет $72,0 \pm 3,219$ мг%.

Таким образом, результаты наших исследований подтверждают, что легкогидролизуемые амидные группы белков мозга являются одним из источников аммиака в мозговой ткани. Мы согласны с предположением М. С. Гаевской, Е. А. Носовой и Л. М. Слез [6], что увеличение содержания трудногидролизуемых амидных групп белков при терминальных состояниях—результат трансформационных изменений в белковой молекуле.

Многочисленными исследованиями также доказано, что в результате процессов амидирования и дезамидирования изменяются физико-химические свойства белков (электрокинетические свойства), их конформационные особенности, макроструктура [2, 3, 7, 9, 12]. Дезамидирование в лабильной фракции амидных групп белков мозга при умирании и клинической смерти мы склонны объяснить тем, что в условиях гипоксии запасы легко мобилизуемых макроэргических фосфорных соединений истощаются и потребность мозга в энергии обеспечивается

Таблица

Изменения в содержании амидных групп белков мозга при умирании и в восстановительном периоде после оживления организма, выраженные в мг% азота аммиака

Величины	Э т а п ы в з я т и я п р о б						
	наркоз	агония	1-ая	5-ая	10-ая	ч е р е з	
			минуты смерти			1 час	24 часа
						после оживления организма	
Легкогидролизуемые амидные группы белков:	$M \pm m$						
	$\bar{p}$						
Пределы колебаний	R						
Трудногидролизуемые амидные группы белков:	$M \pm m$						
	$\bar{p}$						
Пределы колебаний	R						
Суммарные амидные группы белков	$M \pm m$						
	$\bar{p}$						
Пределы колебаний	R						

«резервами второй очереди» [8] — распадом полумакроэргических амидных связей, сопровождающихся выделением примерно 5840 кал/мол и аммиака [15]. А согласно данным Р. Врба [2], концентрация амидных связей в мозговой ткани на много превышает содержание макроэргических фосфорных соединений и поэтому запасы этой энергии превышают энергию макроэргов.

На 10-й минуте смерти наблюдается еще большее уменьшение содержания легкогидролизуемых амидных групп белков мозга ($9,63 \pm 1,04$ мг%), что более чем вдвое меньше исходного уровня. Со стороны трудногидролизуемых амидных групп белков также отмечается некоторое уменьшение, по сравнению с их содержанием на 1- и 5-й минутах клинической смерти. Таким образом, перераспределение между лабильными и стабильными амидными группами в белковой молекуле, наблюдаемое нами на 1- и 5-й минутах клинической смерти, отсутствует на 10-й минуте смерти. Существует мнение, что такое перераспределение, наблюдаемое при некоторых состояниях организма, объясняется обязательностью наличия определенного количества амидных групп для функций белка [7]. Следовательно, нарушение общего количества амидных групп приводит к необратимым изменениям в белковой молекуле.

В другой серии исследований мы определяли изменения в содержании амидных групп белков мозга у собак, перенесших 2,5-минутную клиническую смерть. Пробы мозга извлекались через 1 час после появления первого самостоятельного вдоха и через 24 часа после оживления организма.

Результаты проведенных исследований показывают, что спустя 1 час после появления первого самостоятельного вдоха изменения в содержании легкогидролизуемых, трудногидролизуемых и суммарных амидных групп белков мозга недостоверны, по сравнению с исходным наркозным фоном, т. е. происходит их восстановление. Однако через 24 часа после оживления организма развиваются значительные нарушения в их содержании. Количество легкогидролизуемых амидных групп уменьшается до $11,6 \pm 0,725$ мг%, а трудногидролизуемых возрастает до $49,59 \pm 2,419$ мг%. Выявленные изменения, по-видимому, являются следствием повреждающего действия перенесенной гипоксии. Спустя же час после оживления организма изменения в содержании фракций амидных групп белков мозга, по всей вероятности, не успевают произойти.

Исходя из вышеизложенного, мы приходим к следующим выводам.

1. Одним из источников аммиака в мозговой ткани при терминальных состояниях и особенно в восстановительном периоде после оживления организма являются легкогидролизуемые амидные группы белков.
2. При умирании и оживлении организма происходит перераспределение между лабильными и стабильными амидными группами белков мозга, которое отсутствует на 10-й минуте смерти.

Ա. Ա. ՊԱՊԱՅԱՆ

ԿՊԻՏԱԿՈՒՑԻ ԱՄԻԴԱՅԻՆ ԽՄԲԵՐԸ ՈՒՂԵՂԱՅԻՆ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՈՒՄ ՕՐԳԱՆԻԶՄԻ
ՄԱՀԱՑՄԱՆ ԵՎ ՎԵՐԱԿԵՆԴԱՆԱՑՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ փ օ փ ու մ

Ներկա աշխատանքով նպատակ ենք թնեցել պարզելու ուղեղային հյուսվածքի սպիտակուցների ամիդային խմբերի դերը ամոնիակագոյացման պրոցեսում օրգանիզմի սահմանային վիճակներում և վերականգնացումից հետո վերականգնման շրջանում: Ուսումնասիրվել են ուղեղի սպիտակուցների հեշտ հիդրոլիզվող, դժվար հիդրոլիզվող և գոմարային ամիդային խմբերը: Ուղեղից վերցված է հյուսվածք մորֆին-էֆիրային նարկոզի, հոգեարթի, կլինիկական մահվան 1,5 և 10-րդ րոպեներին, ինչպես նաև օրգանիզմի վերականգնացումից 1 և 24 ժամ անց: Պարզվել է, որ ուղեղային հյուսվածքում օրգանիզմի սահմանային վիճակներում և հատկապես հետոնանիմացիոն շրջանում ամյակի աղբյուր են հանդիսանում սպիտակուցների հեշտ հիդրոլիզվող ամիդային խմբերը, որոնց քանակությունը նշված պայմաններում խիստ նվազում է:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бунятян Г. Х., Арутюнян А. В. Доклады АН Арм. ССР, 1965, XI, стр. 209.
2. Врба Р. Успехи современной биологии, 1956, XI, 1, 3, стр. 321.
3. Врба Р. Чехослов. медицинское обозрение, 1957, 3, 2, стр. 77.
4. Врба Р., Фолбергер Я., Кантурек В. В сб.: Вопросы биохимии нервной системы. Киев, 1957, стр. 154.
5. Гаевская М. С. Биохимия головного мозга при умирании и оживлении организма. М., 1963.
6. Гаевская М. С., Носова Е. А. и Слез Л. М. Укр. биохим. журнал, 1965, 37, 5, стр. 691.
7. Гершеневич З. С., Кричевская А. Н., Лукаш А. И., Ходыкина А. И. В сб.: III Всесоюз. конф. по биохимии нервной системы. Ереван, 1963, стр. 91.
8. Мардашев С. Р. Успехи совр. биол., 1955, 40, 1, стр. 8.
9. Мартинсон Э. Э., Тяхепьльд Л. Я. В сб.: III Всесоюз. конф. по биохимии нервной системы. Ереван, 1963, стр. 103.
10. Неговский В. А. Основы реаниматологии. М., 1966.
11. Силакова А. И., Труш Г. П., Яковлева А. Вопросы мед. химии, 1962, 5, стр. 538.
12. Тийгимяз Э. К., Тяхепьльд Л. Я. В сб.: II биохимическая конференция Прибалтийских республик и Белоруссии. Рига, 1965, стр. 31.
13. Хачатрян С. А. Материалы симпозиума по применению глубокой гипотермии при терминальных состояниях. М., 1964, стр. 91.
14. Хачатрян С. А. Автореферат докт. дисс. Ереван, 1968.
15. Dobry A., Sturtevant J. M. J. Biol. Chem., 1952, 195, 141.
16. Seligson D., Seligson H. L. Lab. Clin. Med., 1951, 38, 324.