

УДК 612.015—08

М. М. МЕЛКОНЯН, В. Г. МХИТАРЯН

ДЕЙСТВИЕ НЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ДЕАМИНИРОВАНИЕ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ В МИТОХОНДРИЯХ МОЗГА И ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС

Изучалась интенсивность окислительного деаминирования глутаминовой кислоты *in vitro* в митохондриях печени и мозга белых крыс в присутствии ненасыщенных жирных кислот (пероксидированных и непероксидированных).

Выявлено усиление процесса аммиакообразования в митохондриях печени в присутствии непероксидированных и пероксидированных олеиновой и особенно линоленовой кислот.

В митохондриях мозга под влиянием вышеуказанных кислот заметного образования аммиака из глутаминовой кислоты не происходит.

В наших предыдущих исследованиях показано, что внутрибрюшинное введение белым крысам пероксидированных и непероксидированных ненасыщенных жирных кислот (НЖК) вызывает значительное увеличение содержания свободного аммиака в мозге белых крыс. При этом в основном имеет место повышение уровня амидоазота белков, а также содержания глутамина. Изменение активности ферментов глутаминазы и глутаминсинтетазы при этом носит фазовый характер. Интенсивность и направленность изменений зависят как от структуры введенной НЖК, так и от сроков введения [4]. Балансовые подсчеты показали резкое возрастание суммарного аммиака.

Мы изучили один из возможных механизмов аммиакообразования в организме—глутаматдегидрогеназный путь. Известно, что глутаматдегидрогеназы различных органов различаются по своей активности, причем наибольшая активность их отмечается в печени. В связи с этим нас интересовало влияние НЖК на окислительное деаминирование глутаминовой кислоты в мозге и печени крыс.

Методика

Исследования проводились на половозрелых белых крысах. Митохондриальную фракцию мозга и печени получали по методу, описанному Г. В. Априкяном и др. [1]. Инкубацию проводили в К-фосфатном буфере в аппарате Варбурга при 37°C в атмосфере кислорода в течение 40 минут. Суммарный аммиак определяли методом Зелигсона [12] в модификации А. И. Силаковой и сотр. [5]. На каждую пробу брали 1 мл митохондриальной взвеси, что соответствовало 500 мг све-

жей ткани. Содержание аммиака выражали в *мкмольх/г* свежей ткани. И использованные субстраты брали в конечной концентрации: глутаминовая кислота (ГК)—10 *мМ*, малонат (М)—20 *мМ*, жирные кислоты—10 *мМ*.

Результаты и их обсуждение

Проведенные нами исследования показали, что добавление к митохондриальной фракции печени ГК приводит к образованию определенного количества аммиака из нее. На этом фоне АДФ как аллостерический активатор глутаматдегидрогеназы не оказывает стимулирующего действия на образование аммиака, что можно объяснить исключительной восстановленностью пиридиннуклеотидных коферментов [11, 13]. В присутствии малоната значительно возрастает образование аммиака из ГК, что в еще большей степени стимулируется действием АДФ. Полученные нами данные согласуются с литературными [1, 2] и объясняются тем, что малонат как конкурентный ингибитор окисления сукцината, подавляя образование сукцината, тем самым предотвращает обратный транспорт электронов в дыхательной цепи и способствует образованию аммиака из ГК через глутаматдегидрогеназный путь. АДФ в интактных митохондриях печени оказывает стимулирующее действие на окислительное деаминирование глутаминовой кислоты, с одной стороны, как стимулятор окисления пиридиннуклеотидных коферментов и восстановленного коэнзима Q [6, 9], с другой—как аллостерический активатор глутаматдегидрогеназы [3, 7, 8]. В этом отношении представляет определенный интерес изучение влияния НЖК на образование аммиака из ГК в интактных митохондриях печени. Наши исследования показывают, что перекисидированная олеиновая кислота сама по себе не оказывает существенного влияния на образование аммиака из эндогенных источников. Установлено, что в присутствии олеиновой кислоты образование аммиака из ГК усиливается на 18%. Этот процесс еще более усиливается (на 47%) при добавлении АДФ (рис. 1).

Другая картина обнаруживается в действии перекисидированной олеиновой кислоты в присутствии ГК+М и ГК+М+АДФ. Так, например, в случае ГК+М образование аммиака из ГК несколько подавляется, а в случае ГК+М+АДФ оно подавляется в еще большей степени (на 60%). Мы допускаем, что стимулирующее действие перекисидированной олеиновой кислоты на образование аммиака из ГК осуществляется через глутаматдегидрогеназный путь. По аналогии действия менадиона [10, 11] можно допустить, что перекисидированная олеиновая кислота, окисляя пиридиннуклеотидные коферменты, тем самым стимулирует окислительное деаминирование ГК. Что касается подавляющего действия олеиновой кислоты на образование аммиака из ГК при наличии малоната, то для выяснения этого вопроса необходимы дополнительные исследования. По-видимому, НЖК, взаимодействуя с малонатом, образуют какие-то метаболиты, в результате действия которых (либо на пиридиннуклеотидные коферменты, либо на

глутаматдегидрогеназу) происходит ингибирование окислительного деаминирования ГК. Из рис. 1 видно, что пероксидированная олеиновая кислота оказывает действие, сходное с непероксидированной олеиновой кислотой.

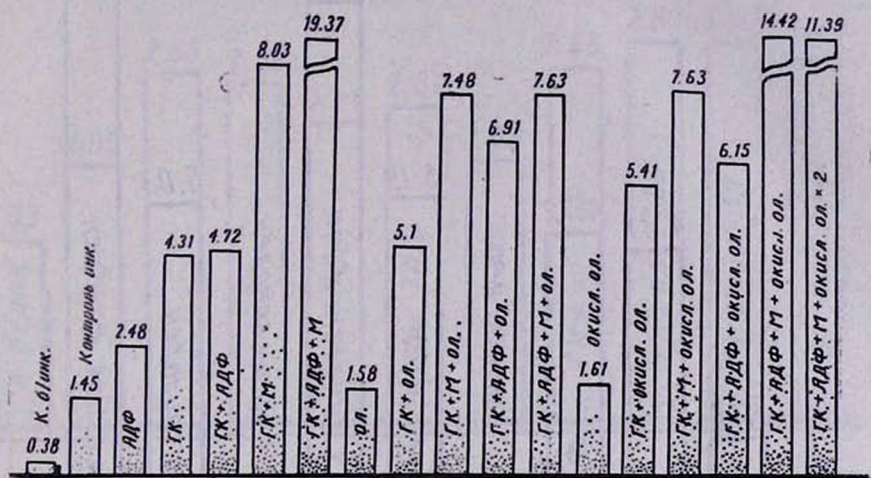


Рис. 1. Действие непероксидированной и пероксидированной олеиновой кислоты на окислительное деаминирование глутаминовой кислоты в митохондриях печени белых крыс (в мкмоль $\text{NH}_3/2$ свежей ткани при 40 мин инкубации).

Изучение действия непероксидированной и пероксидированной линоленовой кислот показало, что оба соединения одинаково усиливают образование аммиака из ГК. Этот эффект несколько превосходит аналогичное действие непероксидированной и пероксидированной олеиновой кислоты в присутствии ГК + АДФ, что, вероятно, обусловлено количеством двойных связей в их молекуле (рис. 2). Изучение действия различных доз непероксидированной и пероксидированной олеиновой и линоленовой кислот показало, что максимальный эффект от непероксидированной олеиновой кислоты получается при конечной концентрации 1400 мкг/2 мл (рис. 3), а от непероксидированной линоленовой кислоты—350 мкг/2 мл. Максимальный эффект от пероксидированных форм указанных НЖК получается при конечных их концентрациях 700 мкг/2 мл. На рис. 4 показано, что в митохондриях мозга белых крыс образуется некоторое количество свободного аммиака из эндогенных источников, что заметно усиливается при добавлении к инкубационной среде 700 мкг/2 мл непероксидированной олеиновой кислоты ($P < 0,001$). Эффект линоленовой кислоты менее выражен. Непероксидированная олеиновая и линоленовая кислоты не оказывают существенного влияния на образование аммиака из добавленной ГК. В этом отношении следует отметить, что в митохондриях мозга взрослых животных заметное образование аммиака из ГК происходит лишь под дей-

ствием АДФ. В отличие от митохондрий печени в митохондриях мозга при добавлении малоната этот процесс несколько подавляется, а у новорожденных и 10-дневных животных выраженно усиливается [2].

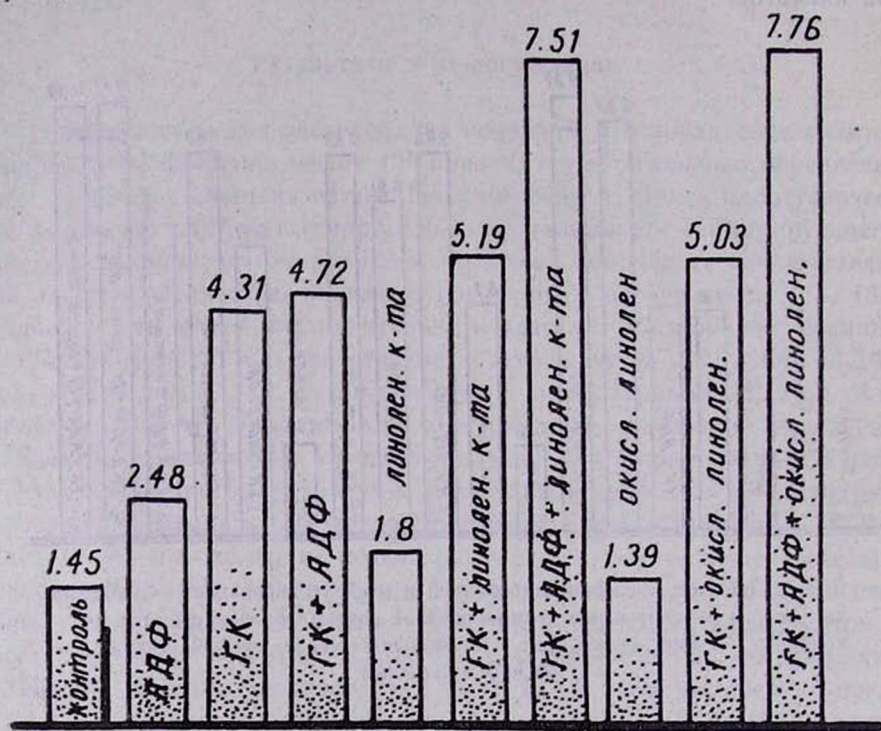


Рис. 2. Действие перекисидированной и перекисидированной линоленовой кислоты на окислительное деаминирование глутаминовой кислоты в митохондриях печени белых крыс (в $\mu\text{моль}$ $\text{NH}_3/\text{г}$ свежей ткани при 40 мин инкубации).

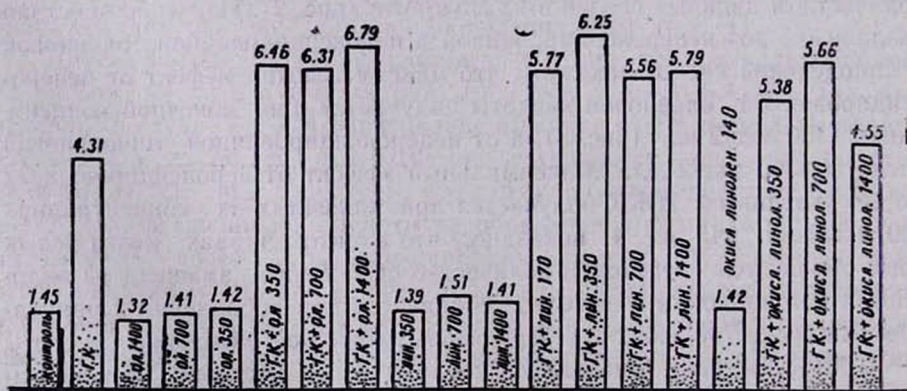


Рис. 3. Действие дробных доз (в $\mu\text{г}$) перекисидированных и перекисидированных олеиновой и линоленовой кислот на окислительное деаминирование глутаминовой кислоты в митохондриях печени белых крыс (в $\mu\text{моль}$ $\text{NH}_3/\text{г}$ свежей ткани при 40 мин инкубации).

Проведенные нами дополнительные исследования показали, что при введении животным в условиях *in vivo* исследованных ненасыщенных жирных кислот в мозге белых крыс не происходит закономерного уменьшения содержания ГК.

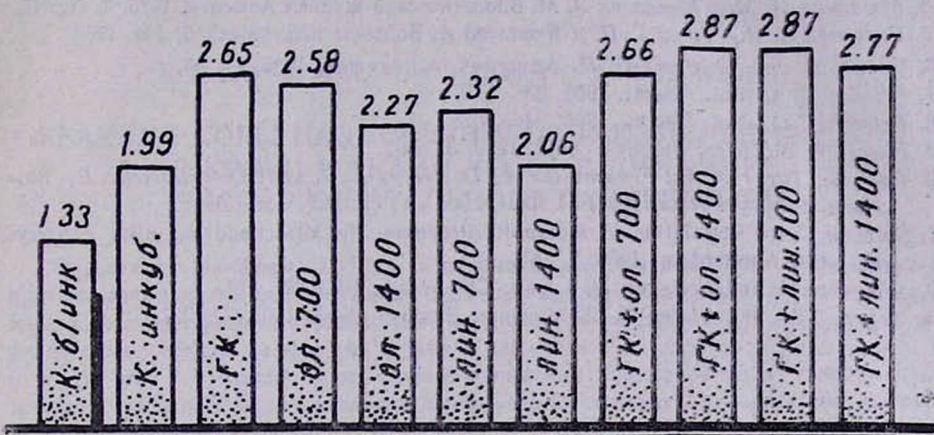


Рис. 4. Действие олеиновой и линоленовой кислот (в мкг) на окислительное деаминирование глутаминовой кислоты в митохондриях мозга белых крыс (в мкмольах $\text{NH}_3/\text{г}$ свежей ткани при 40 мин инкубации).

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что значительное увеличение содержания свободного аммиака в мозге при введении животным НЖК в основном немозгового происхождения.

Кафедра биохимии Ереванского
медицинского института

Поступила 17/III 1975 г.

Մ. Մ. ՄԵԼՔՈՆՅԱՆ, Վ. Գ. ՄԻՔԱՐՅԱՆ

ԱՋԱԳԵՑԱԾ ԺԱՐՊԱԹՔՈՒՆԵՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՈՒՂԵՂԻ ԵՎ
ԼՅԱՐԴԻ ՄԻՏՈՔՈՆԴՐԻՈՒՄՆԵՐՈՒՄ ԳԼՅՈՒՏԱՄԻՆԱԹՔԻ ՕՔՍԻԴԱՑԻՈՆ
ԴԵՋԱՄԻՆԱՑՄԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո մ

Ուսումնասիրվել է *in vitro* փորձերում չհագեցած ճարպաթթուների (պեր-
օքսիդացված և չպերօքսիդացված) ազդեցությունը առնետների լյարդի և ու-
ղեղի միտոքոնդրիումներում գլյուտամինաթթվի օքսիդացիոն դեզամինացման
վրա:

Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ պերօքսիդացված և չպերօք-
սիդացված օլեինաթթուն խթանում են լյարդի միտոքոնդրիումներում ամոնիա-
կի առաջացումը: Փորձի նույն պայմաններում գլխուղեղի միտոքոնդրիումնե-
րում ամոնիակի շատացում չի նկատվում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Априкян Г. В. и Шагинян В. А. Вопросы биохимии мозга. Ереван, 1969.
2. Априкян Г. В. и Шагинян В. А. Вопросы биохимии мозга. Ереван, 1973.
3. Априкян Г. В., Шагинян В. А., Мкртчян Г. А. Третий Всесоюзный биохим. съезд. Рефераты, научные сообщения, 1. Рига, 1974, стр. 49.
4. Мелконян М. М. и Микаелян Э. М. Биологический журнал Армении, 1975, 3, стр. 17.
5. Силакова А. И., Труш Г. П. и Яковлева А. Вопросы мед. химии, 5, 538, 1962.
6. Chance B. and Williams G. R. *Advances in Enzymol.*, 1956, 17, 65.
7. Frieden C. J. *Biol. Chem.*, 1963, 238, 146.
8. Frieden C. J. *Biol. Chem.*, 1965, 240, 2028.
9. Hatefi V. *Biochem. Biophys. Acta*, 1959, 31, 502.
10. Papa S., Tager J. M., Francauilla A., De Haan E. J. and Quagliariello E. *Biochem. Biophys. Acta*, 1967, 31, 14.
11. Saccone C. In: *Regulation of Metabolic Processes in Mitochondria*, BBA Library, Elsevier, Amsterdam, 1966, 7, 165.
12. Seligson D. and Seligson H. J. *Lab. Clin. Med.*, 1951, 38, 324.
13. Tager J. M. and Slater E. C. *Biochem. Biophys. Acta*, 1963, 77, 227.