



КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 612.015+577.153

ВЛИЯНИЕ АММИАКА НА НЕКОТОРЫЕ ФЕРМЕНТЫ ЦИКЛА
МОЧЕВИНЫ И ОРНИТИН-АМИНОТРАНСФЕРАЗУ
ГОЛОВНОГО МОЗГА

СВАМИ М., ПРАСАД М. С. К., САДАСИВУДУ Б.

Центр нейробиохимии, Отдел биохимии Османского медицинского
колледжа, Хайдарабад, Индия

Установлено, что образование мочевины в головном мозгу обусловлено наличием значительной аргиназной активности [1, 2]. Однако из ферментов цикла мочевины в головном мозгу обнаружены только аргининосукцинат-синтетаза, аргининосукциназа и аргиназа. В норме образующийся в головном мозгу аммиак утилизируется за счет образования глутаминна [3]. Тот факт, что аммиак, образующийся в головном мозгу, не утилизируется в форме мочевины, затрудняет понимание метаболической и функциональной роли ферментов цикла мочевины в данном органе. Обнаруженный нами ранее параллелизм между распределением аргиназной и орнитин-аминотрансферазной активностей свидетельствует о том, что функция этих ферментов состоит, по-видимому, в образовании глутамата через орнитин [4, 5]. Роль глутамата в головном мозгу хорошо известна. Хотя механизм отравления мозговой ткани аммиаком не совсем ясен, считают, что психические нарушения, наблюдаемые у больных с печеночной комой, вызваны повышением уровня аммиака в головном мозгу. При отравлении аммиаком в головном мозгу наблюдаются изменения ряда параметров системы глутамата [6, 7], нейротрансмиттеров [8—10] и таких мембраносвязанных ферментов, как Na^+ , K^+ -АТРаза [6], γ -глутамилтранспептидаза [10]. Влияние аммиака на ферменты цикла мочевины мало изучено. Настоящее исследование посвящено изучению активности аргининосукцинат-синтетазы, аргининосукциназы, аргиназы и орнитин-аминотрансферазы в различных отделах головного мозга крыс при остром и хроническом отравлении аммиаком, что, на наш взгляд, позволяет подойти к пониманию не только метаболической значимости этих ферментов, но и их возможной детоксицирующей роли.

В работе использованы α -кетоглутарат (α -КГ) и L-аргинин-гидрохлорид (Höpkins and Williams, Англия), 2-аминобензальдегид („Fluka“, Швейцария), L-орнитин-296

гидрохлорид, L-цитруллин, L-аспарат, аргининосукцинат. АТР, аргиназа, пзонитро-зопрогофенон („Sigma“, США). Остальные реактивы—аналитической чистоты.

В экспериментах использовали крыс линии Albino обеих полов массой 150—200 г. Животные имели свободный доступ к пище и воде. Оправление аммиаком проводили по методу Bessman, Paul [11], как описано Sadasivudu и соавт. [10]. Острое отравление аммиаком вызывали внутрибрюшинным введением ацетата аммония (0,8 ммоль/100 г массы), после чего через 30 мин животное забивали. Хроническое отравление аммиаком вызывали 6-кратным внутрибрюшинным введением ацетата аммония (0,6 ммоль/100 г массы) с 1-часовым интервалом. Крыс декапитировали через 30 мин после последней инъекции. Контрольным животным вводили ацетат натрия. После декапитации быстро извлекали головной мозг и разделяли его на отдельные области, как описано Sadasivudu, Lajtha [12].

Активность орнитин-аминотрансферазы определяли по методу Jenkins, Tsai [13], активность аргиназы—по методу Herzfeld, Raper [15], как описано Rao и соавт. [14], активность аргининосукцииназы и аргининосукцинат-синтетазы—по методу Levin [17], как описано Sadasivudu, Indira Rao [5].

Полученные данные (таблица) свидетельствуют о том, что в норме аргиназная и аргинин-аминотрансферазная активности наиболее высокие в мозжечке (исследованы ствол мозга, кора больших полушарий и мозжечок). Аргининосукцинат-синтетазная активность одинакова во всех 3-х областях головного мозга, орнитинамиотрансферазная активность одинакова в стволе и коре больших полушарий и вдвое выше в мозжечке. Аргининосукцииназная активность минимальна в коре полушарий. Ни острое, ни хроническое отравление аммиаком не сопровождается существенными изменениями аргиназной и аргининосукцинат-синтетазной активностей во всех 3-х исследованных областях, тогда как аргининосукцииназная активность значительно снижается в мозжечке как при остром, так и при хроническом отравлении аммиаком. Орнитин-аминотрансферазная активность существенно не меняется в стволе мозга ни при остром, ни при хроническом отравлении аммиаком, однако значительно возрастает в мозжечке при хроническом, а в коре больших полушарий—при остром отравлении аммиаком.

Ранее нами было показано, что содержание аммиака в головном мозгу увеличивается вдвое при остром и в 4 раза при хроническом отравлении аммиаком при введении последнего по схеме, описанной Sadasivudu и соавт. [10]. Никаких изменений в поведении крыс с острым отравлением не было зарегистрировано, тогда как животные с хроническим отравлением аммиаком становились сонливыми. Поскольку аммиак в головном мозгу утилизируется в форме глутамина, изменения аргининосукцинат-синтетазной, аргининосукцииназной и аргиназной активностей при отравлении аммиаком, по-видимому, опосредованы метаболическими сдвигами, индуцированными накоплением аммиака в головном мозгу. Увеличение орнитин-аминотрансферазной активности в коре больших полушарий при остром отравлении аммиаком способствует усиленному образованию глутамата, нейтрализующего аммиак с образованием глутамина. Было обнаружено, что орнитин-аминотрансферазная активность наиболее высока в синапсоммах и глии [18, 19], ее увеличение в коре больших полушарий

Таблица

Активность аргиназы, орнитин-аминотрансферазы, аргининосукцинназы и аргининосукцинат-синтетазы в различных отделах головного мозга крыс в норме и при остром и хроническом отравлении аммиаком (средние данные 6 опытов)

Ферменты	Ствол мозга отравление аммиаком			Мозжечок отравление аммиаком			Кора больших полушарий отравление аммиаком		
	норма	острое	хроническое	норма	острое	хроническое	норма	острое	хроническое
Аргиназа*	27,66 ±3,80	28,3*** ±2,8	27,6*** ±4,4	33,1 ±4,9	35,1*** ±4,9	32,0*** ±2,6	16,2 ±3,3	16,77*** ±3,30	16,51 ±1,60
Орнитин- трансфераза**	16,2 ±4,7	17,56*** ±3,30	15,9*** ±4,3	24,0 ±4,3	24,9*** ±4,4	14,5 ±3,8 p<0,001	14,4 ±4,4	28,35 ±5,60 p<0,001	17,6 ±4,7
Аргининосукци- наза*	1,42 ±0,29	1,01*** ±0,28	0,98*** ±0,30	1,57 ±0,16	0,80 ±0,13 p<0,001	0,77 ±0,20 p<0,001	0,91 ±0,17	0,86 ±0,17	0,74 ±0,25
Аргининосукци- нат-синтетаза*	2,60 ±0,31	2,36*** ±0,35	2,20*** ±0,32	2,30 ±0,42	2,0 ±0,37	1,9 ±0,4	2,90 ±0,26	2,80*** ±0,32	2,6 ±0,3

Примечание. * Активность выражена в ммоль мочевины/влажной ткани/ч

** Активность выражена в ммоль Δ-пирулин-5-карбоксилата/влажной ткани/ч

*** Во всех случаях, где не указано p, отклонения статистически недостоверны

рий приводило к приросту продукции глутамата в глутаматергических нервных окончаниях и глутамина в глиальных клетках, так как известно, что глутамин-синтетаза локализована в глиальных клетках [20]. Однако механизмы, обеспечивающие повышение этой ферментативной активности при остром отравлении аммиаком, неизвестны. Повышенное образование в синапсосамах коры больших полушарий глутамата—фактора возбуждения—может компенсировать депрессорный эффект аммиака. Наблюдаемое при хроническом отравлении аммиаком значительное снижение орнитин-аминотрансферазной активности в мозжечке может привести к понижению продукции глутамата в глутаматергических нервных окончаниях, чем объясняется наличие мозжечковой симптоматики при повышенных уровнях аммиака, так как глутамат считают нейромедиатором для мозжечка [21]. Механизм понижения аргининосукциновой активности в мозжечке при остром и хроническом отравлении аммиаком неясен, но её снижение может привести к накоплению в мозжечке токсичного аргининосукцината [22], что усугубит отравление аммиаком.

EFFECT OF AMMONIA ON SOME ENZYMES OF UREA CYCLE AND ORNITHINE AMINOTRANSFERASE IN BRAIN

M. SWAMY, M. S. K. PRASAD and B. SADASIVUDU

Centre for Advanced Research in Neurobiochemistry, Department of Biochemistry, Osmania Medical College, India

The activities of argininosuccinate synthetase, argininosuccinase, arginase and ornithine aminotransferase were studied in different regions of the brain in rats subjected to acute and chronic ammonia toxicity. No significant changes were observed in argininosuccinate synthetase and in arginase in acute and in chronic ammonia toxicity. The argininosuccinase activity was found to be decreased in cerebellum in both acute and chronic ammonia toxicity, thus resulting in probable accumulation of argininosuccinate, a known toxic substance to brain. In acute ammonia toxicity increase in the activity of ornithine aminotransferase in cerebral cortex was observed while a decrease in the activity of this enzyme was found in cerebellum in chronic ammonia toxicity. Ornithine aminotransferase was earlier found to be high in synaptosomes and in glial cells. The changes in the activity of this enzyme were discussed in relation to production of glutamate in glutamatergic nerve endings both in cerebellum and cerebral cortex.

ЛИТЕРАТУРА

1. Spron M. B., Dingman, Defalco, Davies R. K. J. Neurochem., v. 5, p. 62—67, 1959
2. Bunatian H. Ch., Davitian M. A. J. Neurochem, v. 13, p. 743—753, 1966.
3. Berl S., Takagaki G., Clarke D. D., Waelsch H. J. Biol. Chem., v. 237, p. 2562—2569, 1962.
4. Sadasivudu B., Indira H. R. J. Neurochem., v. 23, p. 267—269, 1974.

5. Sadasivudu B., Indira Rao T. J. *Neurochem.*, v. 27, p. 785—794, 1976.
6. Sadasivudu B., Indira Rao T., Radha Krishnamurthy C. *Neurochem. Res.*, v. 2, p. 639—655, 1977.
7. Sadasivudu B., Indira Rao T., Radha Krishnamurthy C. *Arch. Int. Physiol. et Biochem.*, v. 87, p. 871—885, 1979.
8. Schanker S., McCandles D. W., Brophy E., & Lewis, MS. *J. Clin. Invest.*, v. 46, p. 838—848, 1967.
9. Sadasivudu B., Radha Krishnamurthy C. *Arch. Int. Physiol. et Biochem.*, v. 86, p. 67—82, 1977.
10. Sadasivudu B., Radha Krishnamurthy C., Rao G. N., Swamy M. *J. Neurosci. Res.*, v. 9, p. 127—134, 1983.
11. Bessman S. P., Paul N.—In: *The Ureacycle* (eds. Griosolia S. et al), p. 83—89, Wiley & Sons, New York, 1976.
12. Sadasivudu B., Lajtha A. *J. Neurochem.*, v. 17, p. 1299—1311, 1970.
13. Jankins T., Tsai H.—In: *Methods in Enzymology* (eds. Colowicka S. P., Caplan N. O.) v. 18, Part A. p. 231, Acad. Press, New York, 1970.
14. Rao G. N., Swamy M., Siva Reddy P., Sadasivudu B. *IRCS Med. Sci.*, v. 9, p. 395—396, 1981.
15. Herzfeld A., Raper S. M. *Biochem. J.*, 153, p. 469—478, 1976.
16. Wybenga D. R., DiGiorgio, Pileggi V. *J. Clin. Chem.* v. 17, p. 891—895, 1971.
17. Levin B.—In: *Advances in clinical chemistry* (Bodensky O., Latner A. L., eds), v. 14, p. 66, Acad. Press, New York, 1971.
18. Wong P. T. H., McGeer E. G., McGeer P. L. *J. Neurochem.*, v. 36, p. 501—505, 1981.
19. Swamy M., Shrivastav K. P., Prasad M. S. K., Sadasivudu B. (Communicated to *J. Neuro Sci. Res.*).
20. Norenberg M. D. *Arch. Neurol.*, v. 33, p. 265—269, 1976.
21. Blass J. P.—In: *Chemisum of the Brain* (Rodinghat R., Bachelard H. S.; Stahl W. L., eds) p. 248—264, Church-Chill Livingston, New York, 1981.
22. Allan J. P., Cusworth D. C., Dent C. E., Wilson V. K. *Lancet*, v. 1, p. 182—187, 1958.

Поступила 11. X 1984