

БИОХИМИЯ

УДК 636:612:398:577.1

А. С. Акопян, Р. Г. Камалян

Влияние гипокинезии на количественные сдвиги аминокислот и катехоламинов в органах и крови белых крыс

(Представлено академиком М. А. Давтяном 27/V 2008)

Ключевые слова: *глутамин, глутаминаза, гипокинезия, катехоламины, корти-костерон*

Глутамин, одна из двадцати входящих в состав белков аминокислот, являясь "белковым сырьем", выполняет и другие ответственные функции, выделяющие его из числа аминокислот по объему выполняемой метаболической работы.

Важнейшей функцией глутамина является его участие в процессах транспортировки, генерации и нейтрализации аммиака. Основным механизмом нейтрализации аммиака является синтез глутамата и глутамина [1], который четко скоординирован и компартиментализован. Нейтральный глутамин легко преодолевает мембранные барьеры и доставляется через кровь в печень, где его аминогруппа используется для синтеза мочевины. Отметим, что этот процесс с большей интенсивностью протекает и в клетках почечных канальцев коркового слоя почек, где отмечается и высокая активность глутаминазы. Одним из основных метаболитов и предшественников глутамина является аммиак, в основном в виде ионов аммония [2]. При физиологических значениях рН последний составляет более 98% общего фонда аммиака.

Глутамин служит предшественником для синтеза глутатиона и других пептидов, образующихся при стрессах, в частности тепловом шоке [3]. Глутамин является важным дыхательным субстратом для быстро размножающихся клеток, таких как энтероциты [4], ретикулоциты [5] и опухолевые клетки [6], а также принимает участие в иммунитете [7-9].

В данной статье рассматриваются сдвиги в системе глутамин-глутаминаза при иммобилизационном стрессе с использованием в качестве известных биохимических показателей стресса катехоламинов и кортикостерона в крови и надпочечниках крыс.

Опыты проведены на крысах-самцах массой 180-200 г. Животных после легкого эфирного наркоза обезглавливали с помощью гильотины, кровь собирали в пробирки с гепарином, удаляли тестируемые органы и определяли соответствующие показатели.

Аминокислоты определяли в печени, мозге, селезенке. Их экстракцию проводили 6% перхлорной кислотой по методу Сейфера [10], а для разделения использовали метод высоковольтного электрофореза в пиридин-ацетатном буфере с последующим окрашиванием нингидрином и колориметрическим определением по стандартным аминокислотным кривым [11]. Количество глутамин рассчитывали по амидному азоту в стартовой полосе аминокислот. Амидный азот определяли микродиффузионным методом [12], активность глутаминазы — по утилизации глутамин гомогенатами органов при их инкубации в 0.05 М Na,K-фосфатном буфере, рН 8.6. Глутамин после электрофоретического разделения определяли колориметрически [11], кортикостерон — флуориметрически по Зильберу [13]. При определении кортикостерона в надпочечниках железы быстро извлекали и растирали на холоду в 33% этаноле из расчета 1 мл на надпочечник. Объем проб доводили водой до 5 мл и 2 мл отбирали на анализ, который сходен с таковым для крови. Катехоламины определяли модифицированным методом Матлиной и сотр. [14]. Катехоламины разделяли хроматографией на окиси алюминия и количественно определяли флуориметрически. Флуоресценцию адреналина и норадреналина измеряли при спектре возбуждения 410 нм и спектре испускания 505 нм. Разница показаний в опытной и контрольной пробах, окисленных при рН 4.2, соответствует концентрации адреналина, а при рН 6.2 — суммарной концентрации адреналина и норадреналина.

Представленные в табл. 1 результаты свидетельствуют о том, что гипокинезия вызывает достоверное повышение концентрации норадреналина и кортикостерона в плазме крови крыс. В концентрации адреналина намечается недостоверная тенденция к повышению. Если учесть резкое уменьшение концентрации адреналина в надпочечниках, то недостоверную тенденцию ее увеличения в плазме крови можно рассматривать как результат захвата и последующей нейтрализации органами симпато-адреналовой системы. Следует отметить, что надпочечники проявляют характерную ответную реакцию на стресс: в них наблюдается достоверное повышение уровня кортикостерона и одновременно снижение концентрации адреналина и

норадреналина.

Таблица 1

Влияние гипокинезии на содержание катехоламинов и кортикостерона в крови и надпочечниках крысы

Орган	Контроль			Гипокинезия		
	А	НА	КС	А	НА	КС
Кровь, мкг·л ⁻¹ плазмы	5.2±0.8	2.4±0.4	105±9	6.0±0.6	3.6±0.5*	212±14*
Надпочечники, мкг·г ⁻¹ ткани	750±69	195±28	30.2±2.4	495±50*	124±31*	45.5±2.8

Примечания: А – адреналин, НА – норадреналин, КС – кортикостерон. * – достоверные сдвиги, $p < 0.05$.

Таблица 2

Влияние гипокинезии на активность ФАГ в органах крыс

Орган		Печень	Мозг	Селезенка
Активность ФАГ	Контроль	30±3.2	30±2.7	44±4.8
	Гипокинезия	20±1.8*	25±2.3*	23±2.5*

Примечания: Активность ФАГ дана в нМ глутамина/мин/мг белка.

Гипокинезия отражается и на системе глутамин-глутаминаза в органах крыс. Так, активность глутаминазы достоверно повышается в печени и особенно в селезенке крыс, тогда как в мозге отмечается лишь недостоверная тенденция уменьшения активности фермента (табл. 2).

Следует отметить, что при стрессовых ситуациях потребность в глутамине повышается и заменимая аминокислота глутамин переходит в разряд эссенциальных. В этих условиях организм стремится сберечь тканевые запасы глутамина и направить их на энергетические нужды иммунных клеток, чем, по-видимому, и объясняется угнетение активности ФАГ в органах крыс.

Таблица 3

Влияние гипокинезии на содержание аминокислот в мозге и печени

Аминокислота	Печень		Мозг	
	Контроль	Гипокинезия	Контроль	Гипокинезия
Глутамин	3.4±0.3	3.2±0.2	4.8±0.5	3.6±0.3*
Глутамат	1.7±0.15	1.4±0.05	8.5±0.7	5.8±0.4*
Аспартат	1.9±0.15	1.7±0.17	2.1±0.2	1.6±0.2
ГАМК	-	-	1.9±0.2	2.8±0.2*

Данные, представленные в табл. 3, показывают, что подавление активности ФАГ в печени не сопровождается сколько-нибудь заметными сдвигами содержания аминокислот в этом органе. Вместе с тем в мозге, где не отмечается достоверного изменения активности ФАГ, у стрессированных крыс наблюдается уменьшение концентрации глутамина, глутамата и повышение уровня ГАМК, что можно рассматривать как защитную реакцию на гипокинезию. Такая направленность сдвигов аминокислот в мозге может быть обусловлена частичным выбросом глутамина в кровь с целью использования в качестве энергетического субстрата иммунных клеток. Повышение уровня тормозного медиатора ГАМК, способствующего смягчению стрессорных реакций, также носит адаптивный характер.

Государственный аграрный университет Армении

А. С. Акопян, Р. Г. Камалян

Влияние гипокинезии на количественные сдвиги аминокислот и катехоламинов в органах и крови белых крыс

Изучено влияние гипокинезии на количественные сдвиги аминокислот семейства глутамина, катехоламинов и кортикостерона, а также активность некоторых ферментов в органах и крови белых крыс. Показано, что у подвергнутых гипокинезии крыс концентрация норадреналина и кортикостерона в плазме крови повышается, в надпочечниках же повышается количество кортикостерона, а концентрация адреналина и надреналина понижается. Одновременно отмечается повышение глутаминовой активности в печени и особенно в селезенке. В мозге, где глутаминовая активность не меняется, регистрируется уменьшение уровня глутамина и глутамата с одновременным повышением концентрации ГАМК, что можно рассматривать как приспособительную реакцию организма на стресс.

Ա. Ս. Նակոբյան, Ռ. Գ. Քամալյան

Սակավաշարժության ազդեցությունը սպիտակ առնետների օրգանների և արյան ամինաթթուների ու կաթեխոլամինների քանակական փոփոխությունների վրա

Ուսումնասիրվել է սակավաշարժության ազդեցությունը գլյուտամինի ընդամենի ամինաթթուների, կաթեխոլամինների և կորտիկոստերոնի քանակական փոփոխությունների ու որոշ ֆերմենտների ակտիվության վրա սպիտակ առնետների օրգաններում և արյան պլազմայում:

Ցույց է տրվել, որ հիպոկլինեզիայի ենթարկված կենդանիների արյան պլազմայում նորադրենալինի և կորտիկոստերոնի կոնցենտրացիաները զգալիորեն բարձրանում են, իսկ մակերիկամներում նկատվում է կորտիկոստերոնի քանակի բարձրացում, ադրենալինի և նորադրենալինի կոնցենտրացիաների նվազում: Միաժամանակ նկատվում է գլյուտամինազային ակտիվության բարձրացում լյարդում, հարկապես փայծաղում: Նիպոկլինեզիայի ենթարկված կենդանիների ուղեղում, որտեղ չկա ՖԱԳ-ի ակտիվության զգալի փոփոխություն՝ նկատվում է գլյուտամինի, գլյուտամաթի մակարդակների նվազում, իսկ ԳԱԿԹ-ի քանակը զգալիորեն բարձրանում է, ինչը կարելի է դիտել որպես պաշտպանական ռեակցիա հիպոկլինեզիայի նկատմամբ: Սրացված օրվյալները վկայում են գլյուտամինի ընդամենի փոխանակման փոփոխությունների՝ օրգանիզմի հարմարվողական մեխանիզմներում ընդգրկման մասին:

A. S. Akopyan, R. G. Kamalyan

The Influence of the Hypocynesy on the Quantitative Changes of the Amino Acids and Catecholamines in the White Rat Organs and Blood

It was study the level of glutamine family amino acids, catecholamine's and corticosterone as well as activities some enzymes in rat blood plasma and tissues in hypocynesy. It was shown the increase of catecholamine's and corticosterone concentration in blood plasma and decrease in adrenals. It is shown increase glutaminase activity in liver and particularly in spleen. In the brain the glutamine and glutamate level decreasing whitout glutaminase changes was appeared.

The data obtained testify about glutamine family amino acids involving into organism adaptation mechanisms.

Литература

1. *Du Ruisseau J.P., Greenstein S.P., Winitz M., Birnibaum S.M.* - Arch. Biochem. Biophys. 1957. V. 68. P. 1957.
2. *Marcaggi P., Coles J.A.* - Progress in Neurobiology. 2001. V. 64. P.157-183.
3. *Roth., Spittlen A., Oehler R.* - Wien. Klin. Wochenscher. 1996. V. 108(21). P. 669-676.
4. *Windmueller H.G., Speath E.A.* - J. Biol. Chem. 1974. V. 249. P. 5070-5079.
5. *Rapoport S., Rost J., Schultze M.* - Eur. J. Biochem. 1978. V. 23. P. 166-170.
6. *Coles N.W., Jonstone R.N.* - Biochem. J. 1961. V. 83. P. 284-291.
7. *Ardawi M.S.M., Newsholme E.A.* - Biochem. J. 1983. V. 212. P. 835-842.
8. *Newsholme P., Curi R., Pithon-Curi T. C. et al.* - J. Nutr. Biochem. 1999. V.10(3). P. 316-324.
9. *Newsholme P.* - J. Nutrition. 2001. V. 131. P. 2515S-2522S.

10. *Saifer A.* - Anal. Biochem. 1971. V. 40. P. 412-423.
11. *Камалян Р.Г., Мовсесян С.Г.* В сб.: Вопр. биохим. мозга. Вып.2. Ереван. Изд. АН АрмССР. 1966. С. 40-48.
12. *Seligson D., Seligson H.* - J. Lab. Clin. Med. 1951. V. 38. P. 324-330.
13. *Silber R.H., Bush R.D., Oslapas R.* - Clin.Chem. 1958. N4. P. 278-283.
14. *Матлина Э.Ш., Меньшиков В.В.* Клиническая биохимия катехоламинов. М. Медицина. 1967.