

З. С. ГЕРШЕНОВИЧ и А. А. КРИЧЕВСКАЯ

АММИАК И ГЛУТАМИН МОЗГА ПРИ ПОВЫШЕННОМ ДАВЛЕНИИ КИСЛОРОДА

(Представлено академиком А. Д. Сперанским 4 II 1954)

Работами советских физиологов (Прикладовицкий, Иванов и др.) установлено, что ведущим в симптомокомплексе кислородного отравления являются нарушения со стороны центральной нервной системы и в первую очередь коры головного мозга. Наиболее тяжелым видимым проявлением кислородного отравления являются судороги, наступающие у животного после некоторого периода беспокойства. Скорость наступления судорог и их продолжительность зависят от величины давления кислорода и индивидуальных особенностей животного. Судороги сменяются так называемым «терминальным» состоянием, после которого обычно животное погибает.

Беспокойное состояние и судороги связаны с возбуждением центральной нервной системы. Владимировой показано, что при возбуждении коры головного мозга количество аммиака в нем увеличивается. Свободный аммиак весьма ядовит и, как было впервые установлено Павловым и Ненцким, приводит к гибели животного. Аммиак в мозгу обезвреживается при взаимодействии с глутаминовой кислотой с образованием глутамина. Реакция эта эндергическая и протекает с использованием энергии аденозинтрифосфорной кислоты (¹², ¹³, ¹⁵).

Из мозга и печени животных выделена ферментативная система, катализирующая синтез глутамина из глутаминовой кислоты и аммиака. Фермент активируется цистеином и ионами магния и инактивируется фторидом. Общая схема этого синтеза представляется следующим образом:



Механизм использования энергии АТФ в этой реакции точно не установлен. Предполагают, что фосфатная группа АТФ и карбоксил глутаминовой кислоты образуют глутамилфосфат. Последний обменивает остаток фосфорной кислоты на аммиак с образованием глутамина и молекулы фосфорной кислоты.

В предыдущих наших исследованиях показаны глубокие нарушения в течении химических процессов в мозгу при действии повышенного давления кислорода. Мы наблюдали постепенное, по мере развития кислородного отравления, падение тканевого дыхания мозга. В первую очередь при этом поражаются цианрезистентные дыхательные системы. Несмотря на торможение дыхания, уменьшается и интенсивность гликолиза. Нарушаются превращения аскорбиновой кислоты, адреналина, тиамин и некоторых фосфорных соединений. Естественно было предположить, что связывание и освобождение аммиака также извращается в результате общей дисфункции обменных процессов мозга.

Настоящее исследование предпринято с целью изучить динамику образования аммиака в мозгу на разных стадиях кислородного отравления и состояние механизмов, его связывающих.

Методика исследования. Опыты ставились на белых крысах весом в 250—350 г. Животных делили на две группы: одна служила контролем, другая подвергалась действию чистого кислорода при давлении 4 и 6 атм. в двух сериях опытов. Исследования проводились в конце предсудорожного и судорожного периодов.

Повышенное давление кислорода создавалось в специальной барокамере, передняя стенка которой была изготовлена из плексигласа, что позволяло наблюдать за состоянием животного в ходе опыта. Образующиеся в камере углекислота и водяные пары поглощались щелочным поглотителем. По окончании экспозиции животное извлекалось из барокамеры и обезглавливалось.

Замороженный в жидком воздухе мозг растирался в ступке и определенная навеска его экстрагировалась 0,5 N HCl. В безбелковом центрифугате определялись аммиак, глутаминовая кислота и глутамин. Аммиак определялся микродиффузионным методом Конвея. Глутаминовую кислоту и глутамин определяли декарбоксилазным методом в аппарате Варбурга (метод Кребс в модификации Даусона⁽⁶⁾). Ферментативный препарат декарбоксилазы глутаминой кислоты получали из суточной культуры *Clostridium Welchii* SR 12 по методу Мардашева⁽⁸⁾. Глутамин определяли в пробе после декарбоксилирования по аммиаку, вытесненному из амидной группы.

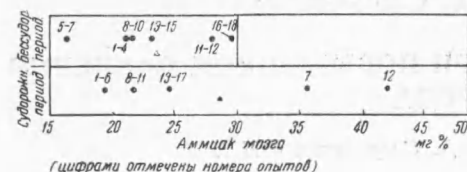


Рис. 1. Аммиак мозга при действии 4 атм. кислорода

Результаты исследования. Пребывание животного в атмосфере повышенного давления кислорода приводит к накоплению аммиака в ткани головного мозга. На рис. 1 приведены величины содержания аммиака в мозгу в «бессудорожный» и «судорожный» периоды кислородной интоксикации при действии 4 атм. кислорода.

При действии кислорода под давлением в 4 атм. судороги наступают обычно через 135 мин. от начала воздействия кислорода. В течение первых 2 час., после короткого периода возбуждения, длящегося около 10—20 мин., животные спокойно сидят в камере. Состояние их при этом можно назвать дремотным. Уже в этом «бессудорожном» периоде количество аммиака в мозгу сильно возрастает. Дальнейшее увеличение аммиака зарегистрировано нами лишь в отдельных случаях судорожного периода (опыты №№ 7 и 12).

Накопление аммиака в мозгу, как следует из наших опытов, не является единственной причиной судорожных приступов. Из рис. 1 видно, что лишь в двух случаях у животных, исследованных в состоянии тяжелых судорожных припадков, содержание аммиака превышает его количество в бессудорожном периоде. Все же во всех случаях, независимо от состояния животного, количество аммиака во много раз превышает величины, установленные для нормы. Отсутствие прямой связи между концентрацией аммиака в мозгу и судорогами особенно хорошо подтверждается серией опытов, в которых кислород применялся при давлении в 6 атм. Как известно, при этом давлении уже через 15—20 мин. наступают почти непрерывные судорожные приступы, заканчивающиеся через 30—40 мин. терминальным состоянием. Прекращение воздействия кислородного давления не прекращает приступов судорог. Сильные тонические и клонические судороги иногда продолжаются и после извлечения животного из камеры.

Однако, несмотря на тяжелое состояние животных, концентрация ам-

миака в мозгу у них в разгар тяжелого судорожного состояния несколько ниже, чем у «бессудорожных» при давлении кислорода в 4 атм. (среднее 15,8 мг%). И лишь в терминальном, т. е. тяжелом агональном, состоянии отмечается в среднем 24,9 мг% аммиака в мозгу. Аммиак в мозгу образуется, главным образом, при дезаминировании адениловой кислоты⁽¹³⁾ и дезаминировании глутамин^(9, 15). В мозгу исследованных нами крыс в норме содержится от 44,2 до 152 мг% глутамин

Длительное воздействие повышенного давления кислорода (4 атм.) приводит к полному исчезновению глутамин из ткани головного мозга (см. рис. 2). Исчезновение глутамин предшествует наступлению судо-

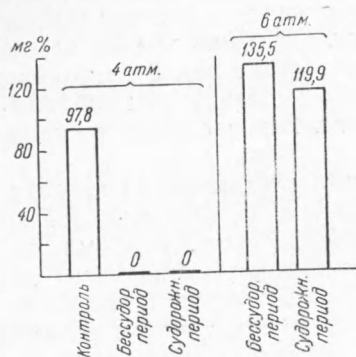


Рис. 2. Глутамин мозга при повышенном давлении кислорода

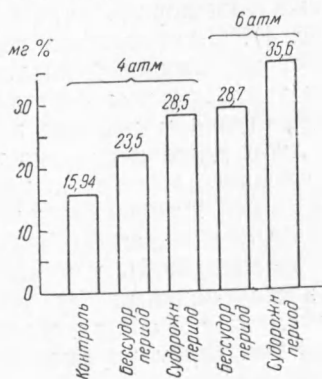


Рис. 3. Общий аммиак мозга при повышенном давлении кислорода

рог. Быстрое развитие кислородной интоксикации при давлении в 6 атм. сверх ожидания не приводит к исчезновению глутамин. Концентрация его в этой серии опытов даже превышает средние величины у контрольных животных.

Глутамин можно рассматривать как источник связанного аммиака. При больших различиях в содержании свободного аммиака в норме и при действии кислорода изменения в количестве общего аммиака (амидный азот глутамин + азот свободного аммиака) менее выражены. В норме количество свободного аммиака весьма невелико. Многие авторы ((¹³) и др.) полагают, что свободный аммиак, обнаруженный в норме, является артефактом. При действии 4 атм. кислорода весь аммиак находится в свободном состоянии (см. рис. 3).

Исследования содержания аммиака в мозгу при судорогах, вызванных электротоком и применением вызывающих судороги лекарственных препаратов ((¹¹) и др.), показали, что в мозгу и в спинно-мозговой жидкости появляется много свободного аммиака. Единственным источником его авторы считают глутамин. Наши исследования не позволяют распространить это положение на кислородные судороги. Мы обнаружили полное исчезновение глутамин и много свободного аммиака в бессудорожный период и, наоборот, при быстро развивающейся интоксикации с сильными судорожными приступами в мозгу не отмечено дезаминирования всего глутамин; в этом состоянии обнаружен как свободный аммиак, так и аммиак, связанный в виде глутамин.

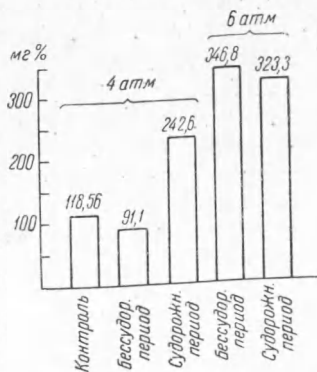


Рис. 4. Глутаминовая кислота мозга при повышенном давлении кислорода

Из рис. 3 видно, что глутамин не является единственным источником аммиака. Чем выше исходное давление кислорода, тем больше свободного аммиака. В настоящее время мы затрудняемся охарактеризовать его происхождение. Возможность увеличения содержания аммиака вследствие дезаминирования адениловой кислоты вызывает у нас сомнения. З. Г. Броницкая в нашей лаборатории при тяжелой форме кислородной интоксикации не только не нашла уменьшения количества АТФ в мозгу, а обнаружила даже некоторое увеличение ее. Последнее не совместимо с представлением о дезаминировании АДФ.

Динамика содержания глутаминовой кислоты в мозгу при различных давлениях кислорода также оказалась заслуживающей внимания (см. рис. 4). С увеличением глубины поражения возрастает и количество свободной глутаминовой кислоты в мозгу. Особенно велико ее содержание при терминальном состоянии после воздействия 6 атм. кислорода. В предсудорожном периоде при 4 атм. содержание ее приближается к норме, либо даже несколько ниже нормы. В последующем судорожном периоде количество ее резко возрастает.

В процессе химической динамики мозга глутаминовая кислота занимает особое положение (¹⁴) и др.). Мобилизацию глутаминовой кислоты можно рассматривать как явление компенсаторное. Нашими предыдущими исследованиями (⁴) установлена активация тканевого дыхания мозга и смягчение общих явлений интоксикации после предварительного введения животным глутаминовой кислоты. Вопрос о том, возникает ли глутаминовая кислота непосредственно в мозгу, приносится ли она кровью, или она не используется в результате потери активности специфической оксидазы, будет предметом наших дальнейших исследований.

Биологический институт
при Ростовском государственном университете
им. В. М. Молотова

Поступило
12 XI 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ З. Г. Броницкая, Тез. докл. на научн. сессии, посвящ. 104-летней годовщине со дня рождения И. П. Павлова. Ростов н/Д., 1953. ² J. Björkstén, *Biochem. Zs.*, **225**, 1 (1930). ³ З. С. Гершеневич, А. А. Кричевская, *Укр. биохим. журн.*, **22**, 336 (1950). ⁴ З. С. Гершеневич, А. А. Кричевская, *Биохимия*, **17**, 684 (1952). ⁵ С. М. Дионисов, В. Д. Кравчинский и др., *Физиол. журн. СССР*, **17**, 1104 (1934). ⁶ B. Dawson, *Biochem. J.*, **47**, 263 (1950). ⁷ F. Dickens, *J. Biol. Chem.*, **40**, 145 (1946). ⁸ С. Р. Мардашев, Р. Н. Этингоф, *Биохимия*, **13**, 469 (1948). ⁹ A. Meister, S. Tice, *J. Biol. Chem.*, **187**, 173 (1950). ¹⁰ И. П. Павлов, *Полное собр. соч.*, **2**, 1951. ¹¹ D. Richter, J. Crossland, B. Dawson, *Abstracts Commun. Intern. Congr. Biochem.*, 1949, p. 181. ¹² J. Speck, *J. Biol. Chem.*, **168**, 403 (1947). ¹³ Д. Л. Фердман, *Усп. биол. химии*, **1** (1950). ¹⁴ H. Weil-Malherb, *Biochem. Soc. Symposia*, No. 8, 16 (1951). ¹⁵ W. Elliot, *Nature*, **161**, No. 4082, 128 (1948).