

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РСФСР

Свердловский Государственный медицинский институт

/Ректор - доцент В.Н.КЛИМОВ/

Кафедра биологической химии

/Заведующий - доктор биологических наук, профессор А.М.ГЕНКИН/

Научный руководитель - профессор А.М.ГЕНКИН

Н.А.ГЛОТОВ

ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ
НА ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ
В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ
ПРИ НЕКОТОРЫХ СОСТОЯНИЯХ ОРГАНИЗМА

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

СВЕРДЛОВСК
1967

О Г Л А В Л Е Н И Е

	<u>Стр.</u>
В В Е Д Е Н И Е	5
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	8
Обмен глутаминовой кислоты в организме	8
Влияние гипоксии и глутаминовой кислоты при этом состоянии на окислительные процессы в тканях	18
Глутаминовая кислота и функция нейроэндокринной системы	25
Митохондрии, структура и функция	41
ГЛАВА II. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	55
СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	
ГЛАВА III. ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ ИНТАКТНЫХ И АДРЕНАЛЭКТОМИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ В НОРМЕ И ПРИ ГИПОКСИИ	64
1. Эксперименты на интактных животных	64
2. Эксперименты на адrenaлэктомированных животных...	71
ГЛАВА IV. ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ КОРТИЗОНАЦЕТАТА И АДРЕНАЛИНА НА ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ АДРЕНАЛЭКТОМИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ	78
1. Эксперименты с введением кортизонацетата адrenaлэктомированным животным	78
2. Эксперименты с введением адrenalина адrenaлэктомированным животным	82

ГЛАВА V. ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ И ОСНОВНОЙ ОБМЕН У ТИРЕОИДЭКТОМИРОВАННЫХ КРЫС В НОРМЕ И ПРИ ГИПОКСИИ	86
ГЛАВА VI. ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В МИТОХОНДРИЯХ РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ	97
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	107
ВЫВОДЫ	118
ЛИТЕРАТУРА	120

ОСНОВНЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

А Д Ф	- аденозиндифосфорная кислота
А Т Ф	- аденозинтрифосфорная кислота
Г А М К	- γ -аминомасляная кислота
Г Т Ф	- гуанозинтрифосфорная кислота
Г Д Ф	- гуанозиндифосфорная кислота
КоА	- кофермент А
Л $\begin{smallmatrix} S \\ \backslash \\ S \end{smallmatrix}$	- липоевая кислота
НАД.Н ₂	- никотинамидадениндинуклеотид восстановленный
НАД	- никотинамидадениндинуклеотид окисленный
НАДФ.Н ₂	-никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный
Р	- неорганический фосфат
Т П Ф	- тиаминпирофосфат

ВВЕДЕНИЕ

В патогенезе заболеваний, наряду со специфическими механизмами его возникновения, большую роль играют нарушения энергетического обмена в клетках пораженного органа и в организме в целом. Поэтому в комплексной терапии вместе с лечением основного заболевания целесообразно назначение лекарственных препаратов, способствующих улучшению окислительных процессов и повышающих общую резистентность организма.

Основные усилия исследователей направлены, главным образом, на поиски специфических лекарственных препаратов и поэтому изысканию медикаментов с широким диапазоном действия, способствующих повышению адаптации организма к воздействию различных стрессовых факторов, уделяется сравнительно мало внимания.

Среди приспособительных механизмов к воздействию чрезвычайных раздражителей немаловажную роль играют процессы дыхания и окислительного фосфорилирования, при осуществлении которых синтезируется основная масса макроэргических фосфатных соединений, необходимых для выполнения физиологических функций организма в самых разнообразных условиях его существования.

Современная медицина не располагает широким арсеналом медикаментов, улучшающих аэробные окислительные процессы в тканях организма. Поэтому изыскание новых лекарственных препаратов, способствующих нормализации нарушенных аэробных окислительных процессов, является вполне оправданным. Одним из таких средств может явиться глутаминовая кислота.

Значение глутаминовой кислоты для организма определяется её участием во многих видах обмена веществ. Легко вовлекаясь в

цикл трикарбоновых кислот, она обеспечивает взаимосвязь обмена белков, углеводов и отчасти жиров, оказывая тем самым регулирующее влияние на окислительные процессы и энергетический обмен в тканях. Это соединение занимает доминирующее положение в устранении свободного аммиака из тканей, участвует в синтезе мочевины, нуклеиновых кислот, глутатиона и некоторых витаминов. Не менее важным в метаболизме глутаминовой кислоты является её способность оказывать регулирующее влияние на функцию нервной системы, обусловленная участием этого соединения и её метаболита - γ -аминомасляной кислоты в синтезе ацетилхолина и в энергетическом обмене мозга.

Изложенное явилось основанием для широкого применения глутаминовой кислоты в клинической практике при лечении различных заболеваний. Её применяют в нервной /Андреев и др., 1955; Драгунова, 1955; Беспалов и др., 1956; Бессонова и др., 1956; Назарова и др., 1958 и др./ и психиатрической /*Lauenstein*, 1952; Колосовский и др., 1955; Литвин, 1956; Волкова и др., 1956; *Munkvad*, 1958; *Goldstein*, 1958; Вангенгейм, 1962 и др./; акушерской /Адинцова, 1962; Жордания, 1965 и др./ и педиатрической /Белая, 1961; Жалыбина, 1963; Славкина, 1965; Вогуткина, 1965, 1966 и др./, терапевтической /Горбунова и др., 1960; Замотаев, 1966 и др./ и других клиниках. Особенно часто и с успехом она используется для лечения заболеваний, сопровождающихся явлениями гипоксии. В работе Генкина и Удинцева /1958/ показано, что глутаминовая кислота в условиях гипоксии, улучшая аэробные окислительные процессы, способствует снижению уровня недоокисленных продуктов обмена и сохранению энергетических ресурсов организма. Благоприятный терапевтический эффект получен в результате применения этого соедине-

ния при лечении печеночной комы /Сунь Цзэн-и, Ли Цзун-Мин, 1958/ и других поражений печени /Брагинская, Геллер, 1965/.

За последние годы было обнаружено стимулирующее влияние глутаминовой кислоты на функциональное состояние надпочечников /Удинцев, 1965/ и щитовидной железы /Волков, 1966/.

В связи с изложенным есть все основания полагать, что терапевтический эффект глутаминовой кислоты при столь разнообразных патологических состояниях и заболеваниях организма не является специфическим, поскольку глутаминовая кислота стимулирует функцию нейро-эндокринной системы, которая является важным фактором в адаптации организма к воздействиям различных стрессовых факторов. С другой стороны, она выступает как регулятор клеточного метаболизма, в частности, функционального состояния митохондрий. Поэтому введенный^В организм глутамат способен не только непосредственно участвовать в обмене субклеточных структур, но и влиять на ход метаболических процессов через нейро-эндокринную систему.

Однако имеющиеся немногочисленные данные литературы недостаточно полно раскрывают механизм действия глутаминовой кислоты *in vivo* на аэробные обменные процессы в тканях. В частности, недостаточно изучены изменения в метаболизме под влиянием глутаминовой кислоты на субклеточном уровне.

Мы предполагали, что о механизме действия глутаминовой кислоты на процессы дыхания и окислительного фосфорилирования позволит судить изучение этих процессов в митохондриях печени животных, находившихся в состоянии гипоксии, гормональной недостаточности и частичной гепатэктомии.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

ОБМЕН ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ОРГАНИЗМЕ

Глутаминовая кислота участвует во многих видах обмена веществ. В метаболизме азотистых соединений; она является связующим звеном между обменом белков и углеводов /Браунштейн, Крицман, 1937; Браунштейн и др., 1944; *D'Adamo, Haft*, 1965/; участвуют в регуляции функции центральной нервной системы /*McKhann, Tower*, 1959; Острецова, Сытинский, 1962/, оказывая подобное влияние и на окислительные процессы в тканях /Браунштейн, 1949, 1949а, 1950, 1957, 1960/. Существенное влияние оказывает глутаминовая кислота и на функцию желез внутренней секреции организма. Так, она повышает уровень адреналина в крови /*Himvisti, Petersen*, 1954; *Kohl*, 1954; *Leiser*, *Klingmüller*, 1955; Оганесян, 1961/ и способствует синтезу ацетилхолина /*Nachmanson, John*, 1943; Кометиани, 1951; *Klotsche*, 1956/.

В самое последнее время появились данные о её стимулирующем действии и на выработку кортикостероидных гормонов /Удинцев, 1965/.

Впервые глутаминовая кислота в составе белка была обнаружена Морковниковым в 70-х годах XIX столетия /Пульман, 1956/. Глутаминовая кислота относится к заменимым моноаминодикарбоновым кислотам. В животных тканях она находится в виде *l*-формы и имеет следующее строение:

$$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$$

По содержанию в различных тканях и органах свободная глутаминовая кислота значительно превышает другие аминокислоты. Так, например, в сером веществе головного мозга различных животных определено в среднем 150 мг% глутаминовой кислоты, в белом - 80 мг%, в селезенке 88,1 мг% и почках - 70,3 мг% /Мамаева, 1955 Клейн, 1956/.

Высокое содержание глутаминовой кислоты в тканях организма /см. также таблицу Ia/ сочетается с важной ролью её в обмене веществ /Браунштейн, Крицман, 1937; *Хилс*, 1935; Крицман, Мелик-Саркисян, 1948 и др./.

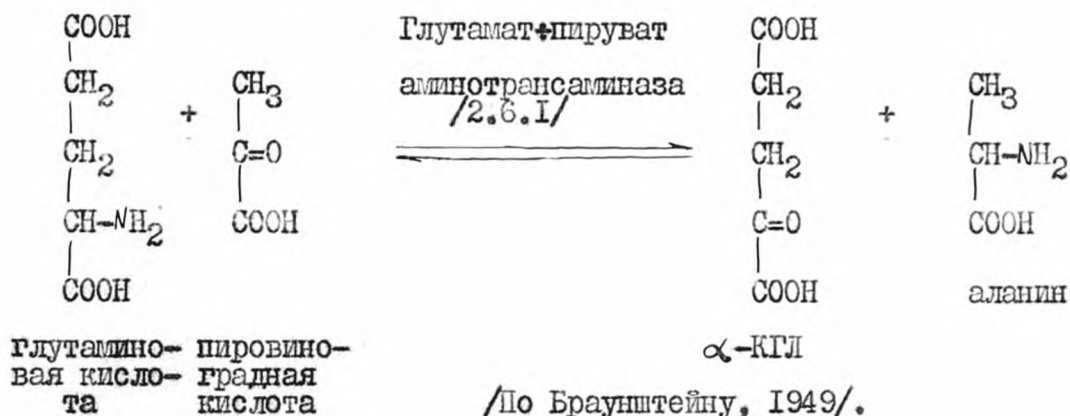
Таблица Ia

Содержание свободных аминокислот в некоторых биологических объектах в мг% /по Майстер, 1961/

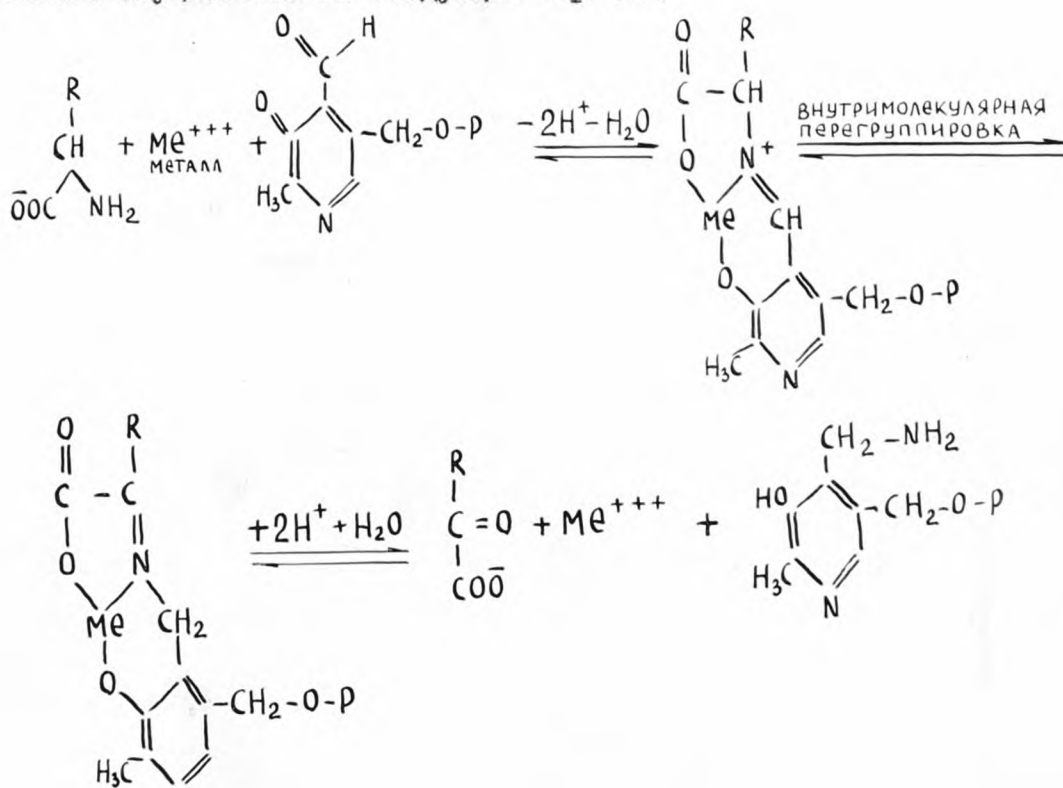
	Печень кошки	Мозг кошки	Икроножные мышцы кош- ки	Почки кошки	Плазма кро- ви человека
Аланин	16,5	8,4	24,7	20,7	3,4-3,2
Аргинин	0,2	1,4	2,7	1,2	1,5-2,5
Аспарагиновая кислота	11,6	29,7	3,9	7,3	0,01
Глутаминовая кислота	66,0	128	36,2	137	0,7-4,4
Глутамин	50	50	50	20	5,8-9,7
Глутатион	118	27,1	28,7	61,6	
Триптофан	1,0	0,7	1,5	0,7	1,1-1,7

Открытие ферментативного переаминирования между ϵ -аминокислотами и α -кетокислотами /Браунштейн, Крицман, 1937/ позволило выявить участие глутаминовой кислоты не только в азо-

тистом обмене, но и в окислительных процессах. Глутаминовая кислота, вступая в реакцию обратимого переаминирования с пируватом превращается в α -кетоглутаровую кислоту / α -КГЛ/, которая в дальнейшем окисляется в цикле Кребса.



Приведенная схема переаминирования глутамата является упрощенной. На самом деле, этот процесс многостадийный и происходит с участием фосфопиридоксала. В общем виде переаминирование аминокислот осуществляется следующим образом:



В процессах трансаминирования важную роль играет система дикарбоновых кислот - глутаминовая, аспарагиновая аминокислоты и их производные - α кетоглутаровая и щавелевоуксусная кислоты. В системе дикарбоновых кислот особое положение глутаминовой кислоты обуславливается, помимо её значительного количественного содержания, также легкостью её превращений в тканях /Браунштейн, 1949, 1959; Krebs, Eggleston, Hems, 1949; Cedrangolo, 1959/. Имеются сведения /Браунштейн, 1949/, что с участием глутаминовой кислоты может обмениваться более 50% азота белковой молекулы. Отсюда - её значение как регулятора обмена белков, углеводов и окислительных процессов во всех органах и тканях /Крицман, Мелик-Саркисян, 1948; Браунштейн, 1949; Still, Buell Green, 1950; Клейн, 1954, 1956; Браунштейн, 1960/.

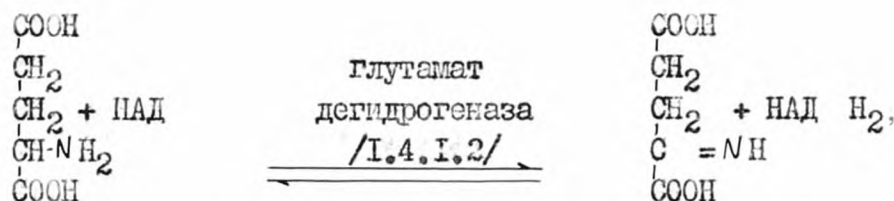
В опытах *in vitro* инкубация глутаминовой кислоты с гомогенатами разных органов сопровождается образованием аспарагиновой кислоты и повышенным поглощением кислорода /Krebs, 1950; Krebs, Bellamy, 1960/.

Подобная реакция была обнаружена и в изолированных митохондриях сердечной мышцы /Borst, Slater, 1959, 1960/. При этом было показано, что превращение глутаминовой кислоты в аспарагиновую ингибируется арсенатом и малонатом в митохондриях печени на 70% и почти полностью /96,6%/ - в саркосомах сердечной и грудной мышц. Торможение снимается добавкой фумарата или малата. Отсюда был сделан вывод о том, что в этой реакции необходимы продукты обмена сукцината, которые являются источником образования щавелевоуксусной кислоты, а последняя в реакции переаминирования является акцептором аминогруппы глутаминовой кислоты. Реакция осуществляется глутамат:щавелевоуксусной-аминотрансферазой

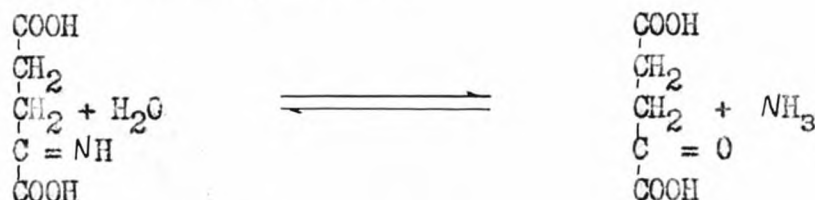
/2.6.1/. За счет этой реакции обеспечивается быстрое окисление глутаминовой кислоты в митохондриях органов, содержащих малоактивную глутаматдегидрогеназу /1.4.1.2; 1.4.1.3/.

Наряду с процессами переаминирования глутаминовая кислота подвергается окислительному дезаминированию с участием строго специфического фермента глутаматдегидрогеназы /1.4.1.2 и 1.4.1.3/, простетической группой которого является НАД или НАДФ /*Jager*, *Slater*, 1963/. Этот фермент находится во всех органах и тканях и локализован исключительно в митохондриях /*Modsvoot*, *Schneider*, 1953/.

Окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты осуществляется в два этапа. Сначала под влиянием глутаматдегидрогеназы /1.4.1.2/ происходит отнятие двух атомов водорода с образованием иминоокислоты



а последняя спонтанно гидролитически распадается на α-кетоглутаровую кислоту и аммиак



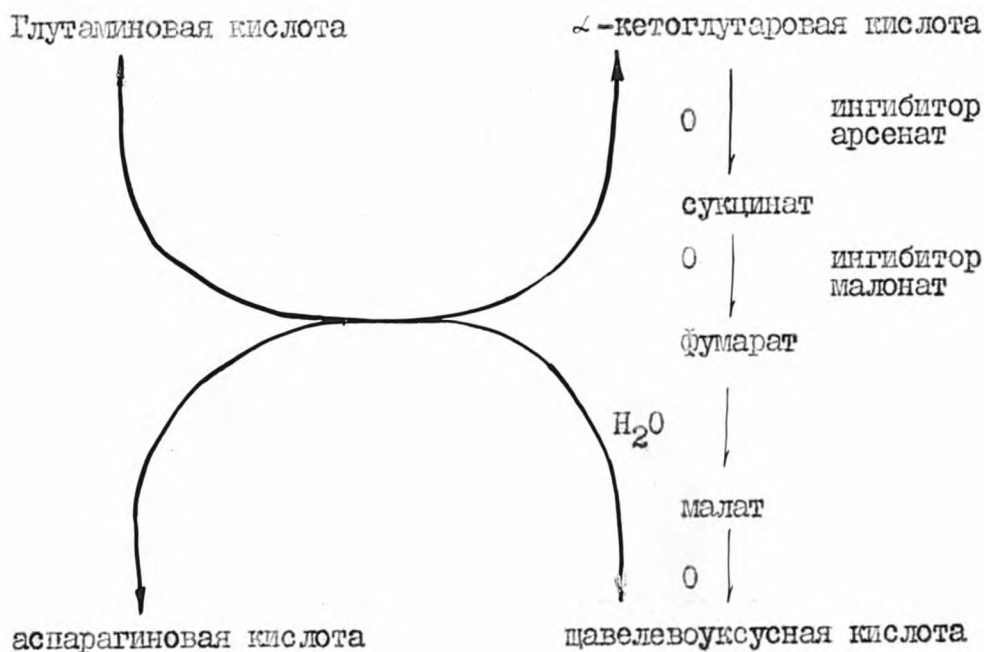
/Браунштейн, 1949/.

Образовавшаяся при переаминировании и дезаминировании α-кетоглутаровая кислота подвергается декарбоксилированию с учас-

тием тиаминпирофосфата, НАД, глутарат: КоАлигазы /6.2.1.6/ и лимонной кислоты по схеме, сходной с превращением пирувата в ацетил КоА /см.стр. 45 /. Этот процесс идет следующим образом: сначала образуется комплексное соединение тиаминпирофосфата с α -кетоглутаратом, затем после дегидрирования и декарбоксилирования выделяется НАД.Н₂, углекислый газ и сукцинил КоА. Последний, взаимодействуя с гуанозиндифосфатом /ГДФ/ превращается в сукцинат и выделяется гуанозинтрифосфат. ГТФ вступает в реакцию перефосфорилирования с АДФ, что сопровождается образованием ГДФ и одной молекулы АТФ. Сукцинат подвергается дальнейшим превращениям в цикле трикарбоновых кислот /Хореккер, Хайят, 1961/.

Схема I

Перезаминирование глутаминовой кислоты со щавелевоуксусной и окисление её в цикле Кребса /по Borst и Slater, 1960/



Глутаматдегидрогеназа /1.4.1.2; 1.4.1.3/ наиболее активна в митохондриях печени, меньшая её активность определяется в саркомах сердечной и грудных мышц голубя / *Borst* , 1962/. Однако превращение глутаминовой кислоты путем окислительного дезаминирования в опытах *in vitro* в свежевыделенных митохондриях происходит в небольшом количестве. Окисление глутаминовой кислоты в этом случае осуществляется в основном трансаминазным путем с образованием эквивалентного количества аспарагиновой кислоты. Подтверждением этого положения является тот факт, что, несмотря на различную активность глутаматдегидрогеназы /1.4.1.2/, отношения убыли глутаминовой кислоты к образовавшейся аспарагиновой в саркомах сердечной и грудных мышц голубя, а также в митохондриях печени одинаковы и равны 1,1 / *Borst и др*, 1960; *Borst* , 1962; *Krebs* , *Bellamy* 1960/. При этом не обнаруживается накопления α -кетоглутаровой кислоты, поскольку последняя окисляется в цикле Кребса до щавелевоуксусной кислоты, которая вновь вступает в переаминирование с глутаминовой кислотой / *Jepley* , 1949; *Still, Bull, Green* , 1950; *Borst, Slater* , 1962; *Jager Slater* , 1963/ см. схему I/.

Kun , *Ayling* , *Baltimore* /1964/ предполагают наличие единой системы окисления глутаминовой кислоты, включающей глутаматдегидрогеназу /1.4.1.4/, глутамат-щавелевоуксусную /2.6.1/ и глутамат-пировиноградную /2.6.1/ аминотрансферазы, в связи с тем, что применение специфических ингибиторов, подавляющих активность одного из указанных ферментов, блокирует начальное окисление глутаминовой кислоты в митохондриях.

Путь окисления глутаминовой кислоты определяется морфологическим состоянием митохондрий. В свежевыделенных митохондриях до

90% глутаминовой кислоты превращается в аспарагиновую путем переаминирования и лишь 10% - подвергается окислительному дезаминированию с выделением свободного аммиака. При старении этих гранул выделение последнего увеличивается, но параллельно с этим уменьшается образование аспарагиновой кислоты / *De Hann* и др., 1964/. В гомогенатах мозга 80% глутаминовой кислоты превращается в аспарагиновую и лишь 10% её декарбоксилируется с образованием γ -аминомасляной кислоты / *Haslam, Krebs*, 1965/. Показана также возможность быстрого превращения избытка аспарагиновой кислоты в глутаминовую / *Krebs*, 1950; *Krebs, Bellamy*, 1960/. *Scaviotto* и др./1951/, определяя содержание свободной глутаминовой кислоты в мозгу при инсулиновом шоке в опытах *in vivo* обнаружил её резкое снижение при одновременном увеличении концентрации аспарагиновой кислоты. По мнению сотрудников лаборатории Кребса, указанный факт может служить доказательством наличия трансаминазного пути окисления глутаминовой кислоты в организме.

Изучение других путей окисления глутаминовой кислоты выявило возможность превращения её в глюкозу и жирные кислоты. При перфузии растворов меченой по 2- C^{14} и 4- C^{14} - глутаминовой кислоты через переживающую печень глутамат, вовлекаясь в цикл Кребса, превращается в 3- C^{14} и 4- C^{14} - глюкозу и нерадиоактивный ацетил-КоА, при этом 54-65% общей активности 2- C^{14} и 5- C^{14} - глутамата определяется в $C^{14}O_2$, в то время как у животных, лишенных пищи, включение радиоактивного изотопа глутамата в глюкозу удваивается / *D'Adamo, Haft*, 1965/. В присутствии глюкозы 20-30% 2- C^{14} и 5- C^{14} глутамата обнаруживается в жирах / *Madson* и др., 1964/.

Среди других аминокислот глутаминовая кислота занимает особое место в связи с высокой скоростью аэробного окисления её в гомогенатах и изолированных митохондриях различных органов и тканей /Krebs, 1935; Северин, 1937; Браунштейн, 1937, 1939, 1949, 1960; Krebs, Bellamy, 1960/. Окисление глутаминовой кислоты сопровождается выделением большого количества энергии /Браунштейн, 1960/, а в некоторых случаях вызывает усиление поглощения кислорода из инкубационной среды гомогенатами и изолированными митохондриями разнообразных органов и тканей. Еще в 1935 году Кребс, изучая влияние глутаминовой кислоты в анаэробных и аэробных условиях на дыхание и гликолиз тканей, обнаружил стимулирующее влияние глутамата на аэробный процесс в срезах мозга и ретины. Поглощение кислорода ядерными эритроцитами под влиянием этой аминокислоты увеличивается на 30%, другие аминокислоты /валин, лейцин и гликокол/ не обладают подобным действием, а в ряде случаев угнетают дыхание эритроцитов /Северин, 1937/.

Глутаминовая кислота повышает дыхательный контроль /Borst 1962/ и окисляется с коэффициентом P:O около 3,0 /Северин, 1962; Скулачев, 1962 и др./.

В таблице 16 приведены данные *deJeroot u Hall* /1965/, которые показывают, что окисление глутаминовой кислоты изолированными митохондриями печени крысы сопровождается повышенным поглощением кислорода из инкубационной среды по сравнению с окислением пирувата β -оксипирувата и цитрата, а также увеличением синтеза АТФ, поскольку поглощение неорганического фосфата при окислении глутамата в 1,5-2 раза больше такового при окислении других субстратов

Таблица 16

Интенсивность дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях печени с различными субстратами дыхания / по Liljevoet и др., 1965/

С у б с т р а т	Q O ₂ мкА х/	Q P мкА х/	P:O
Пируват	30,5±1,4	62,3	2,1
β-оксибутират	30,3±1,0	66,9	2,2
Цитрат	35,5	108,9	3,1
Глутамат	56,8	164,3	2,9

х/ В микроатомах кислорода /мкА O/ и фосфора /мкА P/ на 1 мг белка.

Еще в 1937 году В.А.Северин обнаружил 50% увеличение синтеза АТФ в ядерных эритроцитах под влиянием глутаминовой кислоты. Однократное введение глутамата белым мышам в дозе 0,5 мг на 1г веса животного вызывало повышение содержания АТФ в мозгу с 59,7 мг% до 82 мг%, через 24 часа концентрация АТФ возвращалась к исходным цифрам. Ежедневное однократное введение глутамата в течение трех дней поддерживало содержание АТФ на уровне 82,7 мг% /Иванов, Розенберг, 1955/. Инъекции глутамата зараженным туберкулезом морским свинкам приводят к норме АТФ мозга /Характер, 1963/. С этими наблюдениями согласуется работа Mc Chann, и Tower, 1959/, показавших, что глутаминовая кислота повышает коэффициент P:O в изолированных митохондриях мозга кошек.

Таким образом, приведенные данные литературы свидетельствуют о том, что глутаминовая кислота легко вовлекается в цикл трикарбоновых кислот, хорошо окисляется гомогенатами и митохондриями,

изолированными из различных органов и тканей, а в ряде случаев стимулирует дыхание и окислительное фосфорилирование в них. В этой связи обращают на себя внимание работы ряда исследователей, посвященные изучению влияния глутаминовой кислоты на указанные процессы в организме в условиях гипоксии.

Литературные сведения по вопросам влияния самой гипоксии и глутаминовой кислоты в этих условиях на аэробные окислительные процессы являются предметом обсуждения следующего раздела.

ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ И ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ЭТОМ СОСТОЯНИИ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ТКАНЯХ

1. Влияние гипоксии на окислительные процессы в организме

Общезвестно, что аэробные окислительные процессы являются доминирующими в синтезе макроэргических соединений, необходимых для выполнения физиологических функций организма. В условиях гипоксии, вызванной различными причинами, происходит замедление аэробных окислительных процессов и стимуляция гликолиза. Усиление гликолитических процессов вызывает значительное снижение содержания гликогена в печени и мышцах /Гейтер и др., 1961, 1966/ и накопление молочной и пировиноградной кислот /Летунов, 1960; Путькина, 1965; Feigen, 1955/, а также восстановленных парадокс нуклеотидов /Эпштейн и др., 1966/. Однако анаэробные процессы не могут компенсировать расход АТФ в организме и это проявляется в снижении содержания АТФ при одновременном увеличении АДФ и неорганического фосфата /Крекс и др., 1954; Шапот и др., 1954; Thoen и др., 1955; Захарова, 1962/. Нарастание концентрации АДФ при ги-

поксии влечет за собой не только усиление гликолиза: стимуляция сказывается также на процессах дыхания и окислительного фосфорилирования /Шапот, 1952; Шапот, Громова, 1954/. В этом отношении представляют интерес данные, полученные рядом исследователей по изучению влияния гипоксии на активность дыхательных ферментов в митохондриях, гомогенатах и срезах различных тканей. Так, в условиях острой гипоксии /подъём на высоту 8000 метров на 1,5 часа/ в мозгу, печени и почках морских свинок увеличивается активность цитохромоксидазы /I.9.3.I/ /Сулимо-Самуйло, 1952/. В подобных условиях опыта отмечается повышенная активность сукциноксидазной системы /Torpan и др., 1957a/. Однако в другом варианте экспериментов *in vitro*, когда гомогенаты печени и мозга находились в атмосфере азота /Mengevier, 1954/, а также в митохондриях печени, помещенных в условия аноксии /Малюк, 1965/ наблюдается снижение активности цитохромоксидазы /I.9.3.I/.

Имеются указания о том, что интенсивная физическая работа сопровождается явлениями гипоксии /Чаговец, 1959/. В этом аспекте представляет интерес работа Макаровой /1958/, где было установлено, что кратковременная физическая нагрузка способствует росту активности аденозинтрифосфатазы /3.6.1.3/ в мышцах, в то время как более интенсивная нагрузка, сопровождающаяся утомлением, снижает активность фермента. Сходные результаты были получены при пятичасовом плавании крыс: помимо снижения активности аденозинтрифосфатазы /3.6.1.3/ в мышцах была отмечена также убыль общей дегидрогеназной активности /Чаговец, 1959/.

Повышение потребления кислорода было установлено в митохондриях, выделенных из печени белых крыс, предварительно подвергнутых нагрузке на вращающемся колесе /Hick, Bronk, 1964; Hick 1966/. Однако в других условиях эксперимента: при гипоксии, выз-

ванной введением нитрита натрия, скорость превращения меченой глюкозы в $C^{14}O_2$ уменьшалась на 35-45%, свидетельствуя о снижении интенсивности реакций в цикле Кребса /Путилина, 1965/.

Есть сведения и о том, что изменения со стороны тканевого дыхания, вызванные недостатком кислорода, влекут за собой сдвиги и в характере окислительного фосфорилирования. Так, по мнению Скуличева /1962/, недостаток кислорода является причиной переключения свободного дыхания на фосфорилирующее с одновременным повышением коэффициента $P:O$. Этой точке зрения противоречат данные *Strickland* и др. /1961/, не обнаруживших при гипоксии каких-либо изменений в окислительном фосфорилировании. При резком недостатке кислорода, например, при перевязке сонных артерий /Громова, 1960/, ушибе мозга и инфаркте миокарда /Хачатрян, 1964/, происходит разобщение дыхания с фосфорилированием.

Противоречивые данные литературы по влиянию острой гипоксии на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях объясняются, видимо, различиями в условиях проведения опытов, а именно, неодинаковой степенью гипоксии подопытных животных. Митохондрии очень чувствительны к недостатку кислорода. Уже через три минуты после перевязки веточки коронарного сосуда ультрамикроскопически наблюдается резкое набухание митохондрий сердечной мышцы, а через 20-30 минут - разрушение их структуры /Франк, 1964; Че-чулин и Глаголева, 1964/. И если малые морфологические изменения вызывают разобщение окислительного фосфорилирования /снижение коэффициента $P:O$ /, то при существенных нарушениях ультраструктуры утрачивается их способность к дыханию /Раскер, 1963/.

Особый интерес для клинической медицины представляют работы, посвященные изучению тканевых приспособительных механизмов в условиях хронической кислородной недостаточности. В этом отношении заслуживают особого внимания работы Барбаховой /1960, 1963/. По мнению этого автора, наибольшее значение для адаптации к условиям гипоксии имеют изменения в активности дыхательных ферментов, которые направлены на более полное использование кислорода при его низком парциальном давлении. Согласно данным Барбаховой, при парциальном давлении кислорода, равном 12 мм ртутного столба, гомогенаты различных органов и тканей животных, адаптированных к условиям гипоксии, дышат интенсивнее по сравнению с гомогенатами контрольных животных. Это было обусловлено повышением активности цитохромоксидазы /1.9.3.1/, желтого фермента, аденозинтрифосфатазы /3.6.1.3/, сукциндегидрогеназы /1.3.99.1/ и других дыхательных ферментов. Эти же гомогенаты в атмосфере кислорода и воздуха дышали одинаково с контрольными. Аналогичное явление отмечено и в срезах тканей животных, адаптированных к гипоксии /Whitehorn и др., 1953; Mill, 1959/, а в митохондриях печени установлено увеличение активности НАД.Н₂ : цитохром С - оксидоредуктазы /1.6.2.1/ /Reynafarje, Green, 1960/ и количества цитохрома С /Torran, Reynafarje, 1957/.

Изучение динамики изменения окислительных процессов во время адаптации к гипоксии на первом и втором, а также на восьмом и одиннадцатом поколениях белых мышей показало, что у первых двух поколений эти процессы повышены, в то время как у восьмого и одиннадцатого поколений они нормализовались в связи с повышением продолжительности дыхания с фосфорилированием и более экономным расхо-

дованием энергии /Вербоинская, 1962/. В подобных опытах аналогичные результаты были получены и при определении активности сукцин-оксидазной системы /*Forran и др.*, 1957a/. Отдельные авторы не нашли никаких изменений в поглощении кислорода тканями адаптированных к гипоксии животных /*Strickney, Van Lier*, 1953; *Slack и др.*, 1954/, более того, в некоторых случаях /*Dickworth*, 1961/ было отмечено даже снижение дыхания и количества цитохрома С в мышце диафрагмы. Некоторую ясность в этот вопрос вносят исследования по изучению тканевого дыхания в опытах с приспособлением животных к различной степени гипоксии. Адаптация к высоте 5000 метров в течение 6 недель не сопровождается какими-либо изменениями со стороны дыхания и окислительного фосфорилирования, напротив, при адаптации к высоте 6,5 тысяч метров наблюдается снижение поглощения кислорода в митохондриях печени. По-видимому, такое снижение дыхания является результатом истощения организма подопытных животных и снижением количества ферментов дыхательной цепи, но не приспособительными механизмами. В этих же условиях опыта /высота 6,5 тысяч метров/ добавка АДФ стимулирует дыхание митохондрий сердечной мышцы на 20% /*Strickland и др.*, 1961/. Очевидно, неоднозначность экспериментальных данных не может быть объяснена только разными условиями опытов, важное значение имеет и тот факт, в каких органах или тканях производились определения этих показателей /Дьякова и др., 1966; Куликова, 1966/.

Все изложенное свидетельствует о том, что до настоящего времени нет ясного представления о характере сдвигов при адаптации к гипоксии в тканях различных видов животных. Многочисленные наблюде-

ния, однако, позволяют считать, что тканевые приспособительные механизмы направлены на более полную утилизацию кислорода при его низком парциальном давлении, что проявляется также и в повышении активности некоторых дыхательных ферментов. Этот вывод представляется важным в связи с тем, что стимуляция аэробных окислительных процессов под действием лекарственных препаратов способствует повышению выносливости подопытных животных и людей к гипоксическим состояниям. К таким лекарственным препаратам относятся, в частности, и глутаминовая кислота.

2. Влияние глутаминовой кислоты на окислительные процессы в организме в условиях гипоксии

За последние годы глутаминовую кислоту стали применять как средство борьбы с кислородной недостаточностью при сердечно-сосудистых заболеваниях /Горбунова и др., 1960; Вогулкина, Буйнякова, 1965; Вогулкина, 1966/; пневмосклерозах /Замотаев, 1961, 1966, 1966а/, а также как профилактическое средство асфиксии плода при патологических родах /Горлова, 1960; Галеева, Согрина, 1960; Адинцова, 1962; Жордания, 1965/.

Первые работы по влиянию глутаминовой кислоты на аэробные окислительные процессы в условиях гипоксии были проделаны Генкиным и Удинцевым в 1958 г. Было установлено, что введение глутамата натрия в дозе 1 мг на 1 г веса в опытах при нормальном содержании кислорода во вдыхаемом воздухе не оказывает влияния на его поглощение подопытными животными. Напротив, в условиях гипоксии, вызванной помещением животных в барокамеру, глутамат повышает потребление кислорода примерно на 29% по сравнению с контрольной группой. Такой эффект глутамата натрия авторы объясняют вовлече-

нием его в цикл Кребса и стимуляцией аэробных окислительных процессов. С целью выяснения механизма действия глутаминовой кислоты в этих условиях были проведены опыты по определению активности некоторых дыхательных ферментов. Так, Удинцевым и др. /1960, 1960а, 1961/ установлено, что глутамат в условиях гипоксии и физической работы стимулирует активность цитохромоксидазы /1.9.3.1/ в гомогенатах мозга /20%/, печени /69%/, сердечной мышцы /33%/ и почек /38%/. Одновременно было отмечено повышение активности де-гидрогеназ молочной /1.1.1.27/, глутаминовой /1.4.1.4/ и янтарной кислот /1.3.99.1/.

Макарова /1958/ показала, что у крыс при кратковременной физической нагрузке глутаминовая кислота не влияет на активность АТФ-азы /3.6.1.4/, но повышает её при длительной статической нагрузке и мышечном утомлении, при которых наблюдается снижение активности указанного фермента. Эти данные согласуются с положением о том, что глутамат проявляет свое влияние на фоне нарушенных обменных процессов в организме /Клейн, 1956; Генкин, Удинцев, 1958/.

Представляет существенный интерес изучение влияния глутаминовой кислоты на содержание углеводных резервов и макроэргических соединений в тканях подопытных животных, находящихся в состоянии гипоксии. В опытах на белых крысах, помещенных в барокамеру с атмосферным давлением 190-200 мм ртутного столба, содержание гликогена в печени и мышцах снижается в 7 и 2,5 раза соответственно. Введение глутаминовой кислоты нормализует содержание гликогена в печени /Гейтер и др., 1961; Добринская, 1962/ и в мышцах, увеличивая в последних количество креатинфосфата и АТФ /Гейтер и др., 1962; Гейтер, Борисов и др., 1966; Захарова, 1962/. По мнению

авторов, такие сдвиги произошли за счет стимуляции глутаминовой кислотой аэробных окислительных процессов.

Кроме того, глутаминовая кислота в состоянии гипоксии улучшает дыхательную функцию крови, увеличивая количество гемоглобина в ней и насыщение последнего кислородом /Волков, 1963/.

Следовательно, приведенные данные литературы свидетельствуют о том, что глутаминовая кислота способствует адаптации организма к гипоксическим состояниям различной этиологии. Стимулируя активность ряда дыхательных ферментов, эта аминокислота повышает аэробные окислительные процессы в тканях и снижает уровень недоокисленных продуктов обмена в них, способствуя тем самым более экономному расходованию энергетических ресурсов организма.

В адаптации организма к воздействию стрессовых факторов, в том числе и к гипоксии, существенную роль играют нервная и эндокринная системы, которые занимают одно из центральных мест в регуляции обмена веществ, в частности, процессов дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях различных органов и тканей. В связи с этим представляется целесообразным дать обзор данных литературы, касающихся вопроса влияния глутаминовой кислоты на функциональное состояние нервной и эндокринной систем.

ГЛУТАМИНОВАЯ КИСЛОТА И ФУНКЦИЯ НЕЙРОЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ

Большое значение глутаминовой кислоты для организма определяется её участием во многих важных видах метаболизма. Обменные превращения этой аминокислоты являются тем основным "шунтом", посредством которого обеспечивается взаимосвязь метаболизма белков, нук-

лейновых кислот, углеводов, жиров и витаминов. Вместе с тем глутаминовая кислота играет очень важную роль в обмене веществ и функциональном состоянии нейроэндокринной системы.

Глутаминовая кислота и её производные - γ -аминомасляная кислота /ГАМК/ и глутамин содержатся в нервной ткани в значительно большем количестве, чем другие аминокислоты. Достаточно сказать, что в сумме аминный азот этих соединений в нервной ткани составляет около 70% аминного азота свободных аминокислот /Владимиров, Сытинский, 1961/.

Многочисленными исследованиями показано, что обмен глутаминовой кислоты в нервной ткани идет с большой скоростью /Браунштейн, 1950; Клейн, 1954; *Borst*, 1962 и др./ . Об интенсивных превращениях этого соединения свидетельствуют и опыты с меченой C^{14} - глутаминовой кислотой. Уже через 2-5 минут после её внутривенного введения углерод C^{14} обнаруживается в γ -аминомасляной кислоте, а через 2-5 часов концентрация радиоактивных продуктов резко снижается /*Lajtha* и др., 1959/.

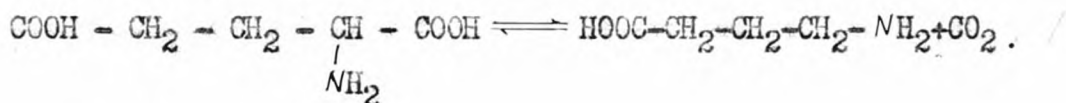
Столь высокие скорости превращения глутаминовой кислоты обеспечивают синтез или распад ряда её производных, влияющих как на энергетический обмен, так и на функцию центральной нервной системы /*Mc Khann, Tower*, 1959; *Sedrangolo*, 1959; Верещагин, Сытинский, 1961 и др./.

Наряду с процессами окислительного дезаминирования и трансаминирования в нервной ткани широко распространена реакция декарбоксилирования глутаминовой кислоты с превращением её в γ -аминомасляную кислоту.

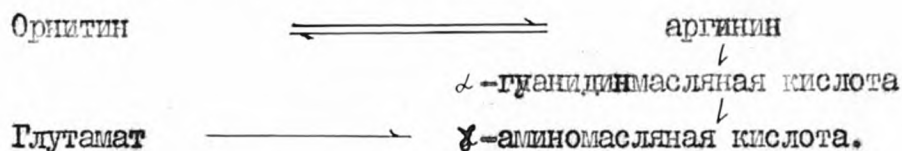
Мозговая ткань содержит высокоактивную декарбоксилазу глутаминовой кислоты /4.1.1.15/. Наибольшая активность её определяет-

ся в сером веществе мозга / *Roberts, Frankel* , 1951, 1951a/. Нельзя не отметить, в связи с этим, что значительная часть активности этого фермента связана с митохондриями клеток мозга / *Gün-
dig, Brethschneider*, 1959/. В других тканях активность глутамат-
декарбоксилазы /4.1.1.15/ незначительна / *Roberts, Frankel*,
1951, 1951a/. Установлено, что простетической группой данного энзи-
ма является оксопиридоксаль, и что фермент обладает высокой спе-
цифичностью / *Roberts, Frankel* 1950, 1951a/.

Образование ГАМК из глутаминовой кислоты было впервые показа-
но в работах *Roberts, Frankel* /1950/ и *Аварача* /1950/. В
опытах *in vivo* с меченой C^{14} - глутаминовой кислотой было ус-
тановлено, что наибольшая удельная радиоактивность меченого угле-
рода определяется в γ -аминомасляной кислоте / *Roberts
Frankel* , 1950a/. Превращение глутаминовой кислоты в γ -аминомас-
ляную гомогенатами /*Аварача и др.*, 1950/ и тканью мозга, осуществ-
ляется с выделением эквивалентных количеств γ -аминомасляной
кислоты и углекислого газа / *Roberts, Frankel* , 1951a/:

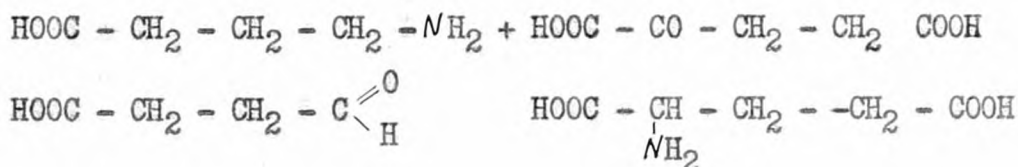


Глутаминовая кислота, вероятно, является не единственным источ-
ником образования γ -аминомасляной кислоты в организме. В по-
следние годы появились работы /Гершеневич, Эмирбеков, 1966/ о воз-
можности синтеза этой аминокислоты в гомогенатах мозга также из
орнитина и аргинина по схеме:



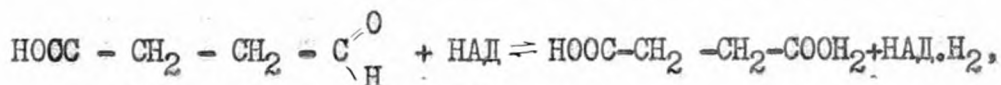
Небезинтересно знать, что наряду с реакциями синтеза γ - аминокислоты, существуют механизмы, с помощью которых это соединение удаляется из тканей организма. Расщепление γ - аминокислоты осуществляется специфическим ферментом ГАМК: α -кетоглутарат-трансаминазой, в состав которого в качестве коферментной группы, входит фосфопиродоксаль /*Baxter, Roberts*, 1958/. Наибольшая активность энзима также определяется в митохондриях /*Gründig, Bretschneider*, 1959/, в частности в подобных образованиях серого вещества мозга /*Albers, Salvador*, 1958/.

Переаминирование ГАМК с α -кетоглутаратом в ткани мозга было открыто *Bessman* и др. /1953/ и в лаборатории *Roberts* /1953/:



В результате этой реакции синтезируется глутаминовая кислота и выделяется полуальдегид янтарной кислоты, который под действием специфичной дегидрогеназы /I.3.99.I/ превращается в янтарную кислоту:

сукцинат дегидрогеназа /I.3.99.I/



а последняя быстро окисляется в цикле трикарбоновых кислот до углекислого газа и воды /*Wilson* и др., 1959; *Mc Khann Tower*, 1959/. Образующаяся в этих реакциях ГАМК, вероятно, играет значительную роль в регуляции функции нервной системы.

Из данных литературы известно, что ГАМК входит в состав тормозящего фактора I / *Вахмеч, Elliot, Florey*, 1956/ и оказывает угнетающее действие на передачу нервного возбуждения в синапсах периферической и центральной нервных систем / *Ричардс и др.*, 1957; *Florey и др.*, 1958; Верещагин и др., 1961/.

После высказанного предположения о влиянии γ -аминомасляной кислоты на функциональное состояние нервной системы появилась серия работ, подтверждающих это положение. Физиологическое состояние нервной системы зависит от концентрации этого соединения в мозгу. Увеличение концентрации γ -аминомасляной кислоты влечет за собой усиление тормозных процессов и, наоборот, снижение — сопровождается возбуждением нервной системы /Верещагин, Сытинский, 1960; Владимиров, Сытинский, 1961/.

В регуляции уровня γ -аминомасляной кислоты нервной ткани большую роль играет активность ферментов, участвующих в образовании и расщеплении этого соединения. Недостаток фосфопродоксала в диете снижает активность декарбоксилазы глутаминовой кислоты /4.1.1.15/ и, следовательно, уровень ГАМК в мозгу /*Roberts, Frankel* 1951a/. Последнее обстоятельство является, видимо, причиной появления судорог у подопытных животных /Владимиров, Сытинский, 1961/. Оба фермента — глутаматдекарбоксилаза /4.1.1.15/ и ГАМК: α -кетоглутарат-аминофераза / 2.6.1 / активны при pH=7,5, но максимум их активности наблюдается при разных значениях pH. Оптимум действия глутамат-декарбоксилазы /4.1.1.15/ проявляется при pH=6,5, а ГАМК α -кетоглутарат-трансаминазы — при pH=8,2 /*Roberts и др.*, 1958/.

Как полагают авторы, незначительное изменение pH вызывает усиление активности одного из ферментов и снижение таковой другого. Это немедленно влечет за собой изменение концентрации γ -аминомасляной кислоты. Так, алкалоз вызывает уменьшение, а ацидоз увеличение концентрации этой аминокислоты в мозгу.

Согласно взглядам Берещатина и Сытинского /1960/, Владимирова и Сытинского /1961/, в регуляции нервной деятельности участвует не глутамат или γ -аминомасляная кислота, а строго сбалансированная система: декарбоксилаза глутаминовой кислоты - γ -аминомасляная кислота - аминотераза и холинацетилаза - ацетилхолин - холинэстераза. Нарушение баланса в этой системе приводит к судорогам.

Большое значение в регуляции нервной деятельности исследователи придают медиаторной роли γ -аминомасляной кислоты. Так, Галояном было установлено, что внутрикаротидное введение γ -аминомасляной кислоты подобно ацетилхолину, увеличивает количество нейросекреторных гранул в гипоталамусе, при этом в одних образованиях гипоталамуса понижается, в то время как в других - повышается активность ацетилхолинэстеразы. Изменение активности фермента влечет за собой соответствующие сдвиги в содержании ацетилхолина. Высокие, равно как и низкие, концентрации ацетилхолина замедляли проведение нервного импульса /Галоян, 1965/.

Другие исследователи отрицают медиаторную роль γ -аминомасляной кислоты в регуляции нервной деятельности, приписывая основное значение влиянию этой аминокислоты на энергетический обмен в клетках нервной системы. Рядом авторов показано, что митохондрии мозга *in vitro* быстро окисляют в цикле Кребса не только глутаминовую кислоту, но и γ -аминомасляную, что послужило основанием для

трактовки роли последней и как регулятора нервной деятельности, и как энергетического ресурса мозга /Gründig и др., 1959; Mc Khann, Tower, 1959/.

Немаловажное значение в регуляции обменных процессов, в том числе и энергетических, придается изменению проницаемости биологических мембран для различных веществ /Нейфак, 1964; Казакова, 1965/. В этом аспекте особый интерес представляют исследования Бунятяна /1960/, который полагает, что изменение проницаемости клеточных мембран мозга для глюкозы является основным фактором в механизме регуляции γ -аминомасляной кислотой функции нервной системы. По мнению этого автора, высокие концентрации γ -аминомасляной кислоты порядка $5 \cdot 10^{-1}$ мкм/мл, уменьшая проницаемость клеточных мембран для глюкозы, снижают уровень окислительных процессов в мозгу, а последние, в свою очередь, является причиной наступления тормозного процесса в нервной системе. Более низкие концентрации γ -аминомасляной кислоты $/10^{-2}-10^{-3}$ мкм/мл/ увеличивают не только проницаемость этих мембран /Егян, 1961/, но и стимулируют окисление пировата в цикле Кребса /Бунятян, 1963/ и окисление глюкозы в нервной ткани /Ямамото, 1960/. Обмен глутаминовой кислоты через γ -аминомасляную - полуальдегид янтарной кислоты - сукцинат имеет важное значение в физиологии мозга. Образующиеся при этом активные вещества тесно связаны с аэробными окислительными процессами и с тонкой регуляцией функции нервной системы /Нилова, 1966/. Действие γ -аминомасляной кислоты на проницаемость клеточных мембран проявляется не только в центральной нервной системе. Так, Мовсеян /1961/ установил, что небольшие дозы этой аминокислоты $/10^{-7}$ м/ повышают поглоще-

ние глюкозы мышечной и хрящевой тканями. Значительная часть глюкозы, которая поступает в эти ткани, превращается в гликоген. В этом отношении по своей эффективности γ -аминомасляная кислота не уступает инсулину /Бунятян, 1960/. Изменение проницаемости клеточных мембран объясняется увеличением количества кислых мукополисахаридов в межклеточных пространствах в результате ингибирующего действия γ -аминомасляной кислоты на активность гиалуронидазы /Талоян и др., 1961, Бунятян, 1963/. Таким образом, γ -аминомасляная кислота оказывает влияние на проницаемость клеточных мембран и обмен глюкозы не только в центральной нервной системе, но и в других органах и тканях.

Исследования влияния ГАМК и тормозящего фактора I на функцию нервной системы показали, что действие их сходно, но не идентично. Это позволило предположить, что кроме ГАМК в состав фактора I входят какие-то другие вещества, обладающие подобным действием /Вахотчи и др., 1956; Mc Lennan, 1957/. Дальнейшими исследованиями установлено, что тормозящим действием, но менее выраженным, чем у γ -аминомасляной кислоты, обладают некоторые гомологи γ -аминомасляной и изомеры аминокислот /Рихрица и др., 1957, 1958; Hayashi 1958, 1959/.

Наиболее выраженным тормозящим действием на нервную систему по сравнению с гомологами ГАМК и изомерами аминокислоты обладает глутаминовая кислота. Клинические исследования показали, что назначение раствора глутамата кальция снижает судороги у новорожденных детей, вызванные кровоизлиянием в центральную нервную систему /Кравец, Бенедикт, 1964/, а магниевая

соль устраняет или уменьшает частоту и продолжительность эпилептических припадков /Поемный, Никольская, 1956/. Отмечен противосудорожный эффект глутаминовой кислоты и у больных после введения им инсулина /Вангенгейм, и др., 1962/. В экспериментах на животных установлено, что 0,1-0,5% растворы этого соединения, подобно ГАМК, снижают возбудимость рецепторов лапки лягушки /Губарев, 1959/, а предварительные инъекции глутаминовой кислоты уменьшают частоту появления судорог и процент летальности при инъекции мышам смертельных доз прозерина /Дяблова, 1960/. Сокращение изолированных мышц лягушки, вызванное прозеринном, гуанидином и иминопиридином, устраняется местным применением этой кислоты. Аналогичный эффект аланина, глутамин, гликокола и аргинина проявляется в концентрациях, превышающих таковую для глутаминовой кислоты в 15-20 раз /Дяблова, 1960а, 1961/.

Тормозящее действие глутаминовой кислоты на возбудимость нервной системы может быть объяснено уменьшением свободного ацетилхолина и, следовательно, снижением проводимости нервных импульсов /Дяблова, 1962/.

Имеются указания об участии глутаминовой кислоты в синтезе ацетилхолина /Nackmanson, John, 1943; Кометиани, 1951/. Так, его синтез в среде, содержащей АТФ, КоА и холин, прямо пропорционален скорости окисления глутаминовой кислоты /Кометиани, 1954/. Если учесть точку зрения Галояна /1965/, согласно которой высокие и низкие концентрации ацетилхолина способствуют снижению функции нервной системы, то один из возможных путей противосудорожного действия глутаминовой кислоты, видимо, связан с её участием в

синтезе этого важного медиатора нервной системы.

Многочисленными работами Владимировой /1950, 1954, 1957, 1963 и др./ убедительно показано, что содержание свободного аммиака в нервной системе является тонким биохимическим показателем её функционального состояния. Широко известно также, что глутаминовая кислота играет огромную роль в обмене и обезвреживании аммиака - продукта обмена белков /Браунштейн, 1950; Владимирова, 1950; Фердман, 1950; Владимиров, 1954; Врба, 1956; *Meyster, Kris-haswary, Familjans*, 1962 и др./ . Токсическое влияние аммиака на центральную нервную систему животных было убедительно показано блестящими экспериментами И.П.Павлова и В.Н.Массена с наложением экковского свища между воротной и нижней поллой венами. У подопытных животных после выключения печени из кровообращения появляются симптомы расстройства функции мозга в виде возбуждения и судорог тонического и клонического характера. Тяжесть интоксикации усиливается после кормления таких животных мясной пищей. Токсическое влияние аммиака на нервную систему у животных с выключенной функцией печени подтверждено в работах Веселкина и Гордон /1953, 1955/.

Обезвреживание аммиака в тканях организма происходит путем синтеза глутамина /Фердман, 1950; Фердман, Эпштейн, 1950; Гершеневич и др., 1960/. Убедительным доказательством устранения токсического влияния аммиака глутаминовой кислотой являются опыты Б.А.Владимировой /1960/. Она установила, что инъекции крысам 10% раствора хлористого аммония /0,6-1,0 мл на 100,0 г веса/ вызывают смерть через 10 минут. Однако если за 10-15 минут до этой манипуляции ввести 2 мл 0,1М раствора глутаминовой кислоты, то ток-

сическое влияние ионов аммония снижается настолько, что у животных не появляется даже судорог.

В опытах с внутрикаротидным введением меченого аммиака самая высокая радиоактивность определяется в амидной группе глутамина мозга. Характерно, что параллельно с этим снижается количество глутаминовой кислоты /*Verel* и др., 1962/. Подобные изменения в содержании глутаминовой кислоты и глутамин обнаружены также в опытах с введением кофеина /Узбекова, 1962/.

Известно /Гордон, 1963/, что поражение печени четыреххлористым углеродом значительно снижает синтез мочевины в печени, а также является причиной повышения концентрации аммиака в мозгу. Совместное введение животным четыреххлористого углерода и глутаминовой кислоты способствует синтезу глутамин и уменьшает количество ионов аммония в нервной ткани.

По мнению многих исследователей, синтез глутамин является одним из самых интенсивных биохимических процессов в мозгу /Ач, Баланж, Штрауб, 1953; *Meister* и др., 1962/, с помощью которого устраняются избытки аммиака в нервной ткани. Поэтому система глутаминовая кислота - глутамин является регулятором содержания свободного аммиака в мозгу /Владимиров, 1954/.

Врба /1955, 1956/ предложил гипотезу цикла глутаминовой кислоты, согласно которой, глутаминовая кислота, входящая в состав белковых молекул, играет важную роль в процессах деамидации и реамидации белков. При возбуждении нервной системы в результате распада белковых молекул повышается содержание аммиака. При торможении свободная глутаминовая кислота, превращаясь в глутамин, способствует устранению этого соединения. Образующийся глутамин,

обладая большим запасом энергии, быстро присоединяется к белковой молекуле посредством пептидной связи.

Роль аммиака в обмене веществ центральной нервной системы выяснена еще не полностью. Однако за последние годы появились сведения о влиянии этого соединения на аэробные окислительные процессы в мозгу. Тарве /1963/ установил, что подкожное введение хлористого аммония /1 г на 1 кг веса/ белым крысам вызывает накопление аммиака, а также молочной, пировиноградной и α -кетоглутаровой кислот в мозгу. Параллельно этому снижается активность цитохром-оксидазы /1.9.3.1/ и сукцинатдегидрогеназы /1.3.99.1/. Введение глутаминовой кислоты вызывает уменьшение количества аммиака в нервной ткани и предотвращает указанные нарушения в обмене.

Нилова /1966a/ в опытах *in vitro* с гомогенатами мозга показала, что если в инкубационную среду, содержащую глутаминовую и щавелевоуксусную кислоты, добавить аммиак, в концентрации, близкой к физиологической / 10^{-4} M/, то происходит увеличение активности глутамат: щавелевоуксусной - аминотрансферазы /2.6.1/. Этот эффект, по мнению автора, может способствовать увеличению интенсивности дыхания. Заслуживают внимания и работы /Энгельгардт, Баев, 1936; Белогорский, 1949; Стуруа, 1954; Шапот и Громова, 1954 и др./, которыми показано, что в условиях гипоксии увеличивается выделение аммиака в организме. Последний, в свою очередь, связывая один из главных компонентов лимоннокислого цикла - α -кетоглутаровую кислоту, ингибирует дыхание /Браунштейн, 1959; Katuruma Nabisiko и др., 1963; Ленинджер, 1966/.

Важная роль глутаминовой кислоты в обмене веществ и тот факт, что она принимает широкое участие в регуляции содержания свобод-

ного аммиака в тканях, наводит на мысль, что, возможно, все это является одним из проявлений регулирующего влияния этой аминокислоты на аэробные окислительные процессы в организме.

Сравнительно недавно было установлено, что некоторые аминокислоты оказывают стимулирующее влияние на функцию гипофиз-адреналовой системы. *Yohk* и др. /1957/ в опытах на крысах с удаленным левым надпочечником обнаружил после энтерального введения метионина, лейцина и аргинина гипертрофию правого надпочечника и уменьшение содержания в нем аскорбиновой кислоты. Подобное явление отсутствовало у гипофизэктомизированных животных. Автор считает, что эти аминокислоты стимулируют секрецию АКТГ гипофизом. Однако этому взгляду противоречат результаты опытов, проведенных *in vitro*, когда наблюдалось усиление синтеза гормонов в ткани надпочечников при добавке в инкубационную среду цистеина и глутатиона /*Kovitz, Peron*, 1959/. Прямые доказательства подобной стимуляции функции надпочечников получены на людях-добровольцах, употреблявших в пищу, содержащую много белков /*Tom*, 1962/ и в аналогичных опытах на животных /Громова, 1963/. В обоих случаях определялось повышенное количество кортикостероидных гормонов в крови. Эти эксперименты косвенным образом подтверждают концепцию Гота /1962/, согласно которой стимуляция функции гипофиз-адреналовой системы при даче белковой пищи происходит в связи с усилением расхода кортикостероидов на усвоение организмом введенных с пищей аминокислот.

Результаты Гота и Громовой согласуются с опытами *Mingo и Mischugi* /1962/. Этими исследованиями установлено, что при энтеральной даче больших доз /1 г на крысу/ метионина и лейцина

увеличивается включение P^{32} в рибонуклеиновые кислоты, стимулируется синтез белка и гликогена в печени в течение 18-24 часов с момента скормливания этих аминокислот. Кортизонацетат оказывает аналогичное действие. На адреналэктомизированных животных ни метионин, ни лейцин не оказывали подобного эффекта. Дальнейшие исследования показали, что в крови и надпочечниках подопытных животных увеличивается концентрация кортикостероидов при скормливании указанных аминокислот / *Минчо* и др., 1963/.

Имеются сведения о том, что глутаминовая кислота значительно стимулирует функцию надпочечников / *Cohen* и др., 1959/. *Оганесян* /1961/ в опытах на собаках с выведенными мочеточниками выявил уменьшение диуреза и увеличение реабсорбции воды в почках после введения подопытным животным глутаминовой кислоты. Изменения в выделении мочи объясняются способностью этой аминокислоты повышать функцию симпато-адреналовой системы, а также выделением минералокортикоидов. Веским доказательством стимуляции функции коры надпочечников являются результаты опытов, в которых введение морским свинкам глутамата натрия /1 мг на 1 г веса/ в первые часы вызывает значительное увеличение кортикостероидных гормонов в крови, оттекающей от надпочечников /*Удинцев, Астафьев*, 1966/. В более поздние сроки /через 24 часа/ эта аминокислота не оказывает подобного эффекта, видимо, в связи с быстрым окислением её в организме подопытных животных /*Минчо, Микелуи*, 1962; *Минчо* и др., 1963/.

Через 1-2 часа после внутривенного введения 10 мл 10% раствора глутамата кальция концентрация кортикостероидов в крови больных пневмосклерозом увеличивается с 16,4 до 26,3 мкг% /*Замотаев* и др., 1966/.

Свидетельством стимулирующего влияния глутаминовой кислоты на функцию гипофиз-адреналовой системы в условиях напряжения являются работы Удинцева /1965/ и Удинцева и Парунова /1966/, в которых показано, что введение глутамата натрия /1 г на 1 кг/ животному с удаленным левым надпочечником сопровождается значительно большим снижением содержания аскорбиновой кислоты в правом надпочечнике по сравнению с контрольными животными, которым вводился физиологический раствор. По мнению этих авторов, глутаминовая кислота, стимулируя стероидогенез, способствует адаптации животных к условиям стресса.

Последующими исследованиями установлено, что глутаминовая кислота в опытах *in vitro* увеличивает выработку кортикостероидов в гомогенатах коры надпочечников быка /Удинцев, Шаугольных, Кокорева, 1966а, 1966б/ в результате стимуляции реакций пентозного цикла /Удинцев, Якин, 1966/.

Стимуляция функции гипофиз-адреналовой системы под действием глутаминовой кислоты сопровождается не только повышением синтеза гормонов коры, но и гормона мозгового вещества надпочечников - адреналина /Well-Malerve, 1952, 1955; Himwisch, Petersen, 1954; Kohl, 1955/. Это положение подтверждают опыты, в которых введение глутаминовой кислоты кроликам повышает уровень сахара в крови и одновременно с этим снижает содержание гликогена в печени /Petersen, 1955; Petersen и др., 1955а/. Указанное обстоятельство может быть объяснено увеличением количества адреналина в крови /Geyer, Klingmüller, 1955/. Адренергическое действие глутаминовой кислоты используется в клинической практике для выведения боль-

ных из гипогликемической комы, вызванной введением инсулина / Mayer - Gross, Walker, 1949/.

И, наконец, нельзя не остановиться на работах, свидетельствующих о стимулирующем влиянии глутаминовой кислоты на функцию щитовидной железы. В условиях стресса /гипоксия и интенсивная физическая нагрузка/ происходит угнетение функции щитовидной железы, о чем свидетельствует снижение поглощения радиоактивного иода этой железой. Инъекции глутаминовой кислоты на этом фоне не повышают накопление иода в железе в первые часы после введения радиоактивного иода на 23%, в дальнейшем через 4 часа эта разница сглаживается /Волков, 1966/. Стимулирующий эффект на функцию щитовидной железы проявляется и при длительной даче глутаминовой кислоты с пищей животным, которые находились на малобелковой и иод-дефицитной диете /Волков и др., 1966a/.

Таким образом, обмен глутаминовой кислоты в организме тесно связан с функциональным состоянием нервной и эндокринной систем, в частности, с функцией надпочечников и щитовидной железы.

Как отмечалось ранее, ферментные системы, участвующие в дезаминировании, переаминировании и декарбоксилировании глутаминовой кислоты, представлены в митохондриях, здесь же локализованы ферменты цикла Кребса и окислительного фосфорилирования. Надо полагать, что метаболизм этой аминокислоты тесно связан с механизмом аэробного окисления. В связи с этим представляется целесообразным остановиться на данных литературы, касающихся структуры и функции митохондрий.

МИТОХОНДРИИ, СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ

Митохондрии являются органоидами клетки и содержатся во всех клетках животного и растительного мира /Грин, Флейшер, 1964/. Открытие митохондрий связывается с именем Бенда /1898 г./, хотя эти гранулы были описаны ранее Флемингом /1882/ и Альтманом /1890/ /Алов и др., 1966/.

Термин митохондрия в переводе означает - нить из бусинок /митос - нить, кондрос - зерно/, что характеризует типичную морфологическую организацию этих гранул /Шабадаш, 1966/.

Несмотря на сравнительно большой срок, прошедший с момента открытия митохондрий, наибольший прогресс в изучении их структуры и функции был достигнут лишь за последние 15 лет /Шабадаш, 1966/ благодаря внедрению в практику электронной микроскопии, разработке методов получения ультратонких срезов /Palade, 1952; Sjöstrand, 1953, 1956/ и выделения митохондрий из органов и тканей /Hogewoot и др., 1948; Хогевум и Шнейдер, 1957/.

Форма и размеры митохондрий неодинаковы в разных органах и тканях. Они могут иметь вид палочек, нитей, овоидных и звездчатых образований и т.д. /Шестранд, 1957; Бреше, 1960; Грин, 1964; Ленинджер, 1966; Шабадаш, 1966/. Размеры митохондрий колеблются от 0,5 до 2 микрон в поперечнике и имеют длину до 10 микрон /Збарский, 1957; Алов и др., 1966; Ленинджер, 1966/.

При изучении ультраструктуры митохондрий с помощью электронного микроскопа было обнаружено, что они представляют собой полые органоиды, ограниченные снаружи двумя мембранами - наружной

и внутренней. Каждая из мембран состоит из трех слоев: наружного и внутреннего - осмеофильных белковых слоев, между которыми расположен не окрашивающийся осмиевой кислотой прозрачный слой, состоящий из липопroteидов. Обе эти мембраны и составляют оболочку митохондрий / *Palade* , 1952; Шестранд, 1957, 1959, 1963; *Green, Crane* , 1957; Грин, 1964; Шабадаш, 1966/.

От внутренней мембраны внутрь митохондрий отходят так называемые кристы, представляющие собой дубликатуру внутренней мембраны /Грин, Флейшер, 1964; Грин, 1964; Ленинджер, 1966/, которые выступают внутрь митохондрий параллельно друг другу и в большинстве случаев перпендикулярно продольной оси митохондрий /Шестранд, 1959, 1963; *Palade* , 1952/.

Между кристами, в пространстве, ограниченном внутренней мембраной, расположено осмеофильное вещество, называемое матриксом / *Palade* , 1952; *Sjöstrand, Rhodin* , 1953; Шестранд, 1959, 1963; Шабадаш, 1966; Ленинджер, 1966/. В матриксе содержится много белка и некоторое количество липидов /Ленинджер, 1966/.

По Грину /1964/ митохондрии выполняют три основные функции:

1. Образование активных электронов при окислительных процессах в цикле трикарбоновых кислот.

2. Перенос их по ферментам дыхательной цепи.

3. Сопряжение транспорта электронов с синтезом АТФ.

Green, Loomis и Auerbach в 1948 г. сообщили о способности частиц, выделенных из тканей, осуществлять окисление пириноватной кислоты до углекислого газа и воды без накопления промежуточных продуктов. Этот ферментный комплекс был ими назван

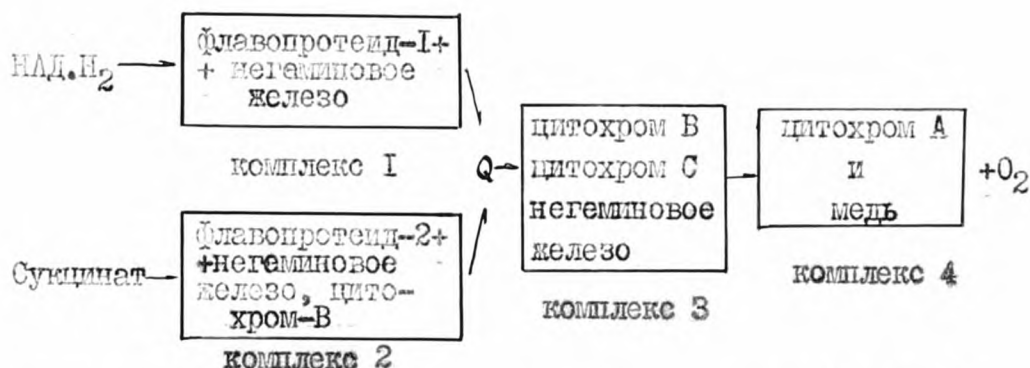
циклофоразной системой. В последующих работах Грином были изучены свойства этой системы. Он показал, что циклофоразная система способна осуществлять реакции цикла трикарбоновых кислот / *Grreen* , 1951; Грин, 1952/.

Работами *Schneider* и *Potter* /1949/, *Kennedy* и *Lehninger* /1948/ было показано, что изолированные митохондрии могут окислять некоторые метаболиты цикла Кребса. Это позволило Грину /1952/ сделать вывод о том, что ферменты циклофоразной системы локализованы в митохондриях. Имеющиеся данные и последующие исследования ряда авторов выявили, что сукцинатдегидрогеназа /1.3.99.1/ и цитохромоксидаза /1.9.3.1/ целиком локализованы в митохондриях / *Schneider* , 1946; *Hodeboom* и др., 1948, 1950; Куфф, Шнейдер, 1957;/. Ферменты, окисляющие НАД.Н₂ и НАДФ.Н₂, распределены в клетке диффузно /Шнейдер, 1957/ с митохондриями связано 28% активности НАД.Н₂:цитохром С оксидоредуктазы /1.6.2.1/ / *Hodeboom* , *Schneider* , 1950/ и 49% активности НАДФ.Н₂: цитохром С - оксидоредуктазы /1.6.2.3/ / *Hodeboom*, *Schneider* , 1950/.

Грин /1964/ считает, что внутренняя мембрана состоит из элементарных частиц, в которых расположены ферменты, осуществляющие транспорт электронов по дыхательной цепи, сопряженный с синтезом АТФ. При этом, каждая частица содержит полный набор ферментов дыхательной цепи и окислительного фосфорилирования. В просвете между наружной и внутренней мембранами находится в виде растворов соли и коферменты: КоА, НАД, НАДФ и другие нуклеотиды, которые являются связующим звеном между наружной и внутренней мембранами. По мнению Грина, НАД, восстанавливаясь на наружной мембране, совершает челночное движение к внутренней

мембране, где окисляется и отдает электроны в систему дыхательной цепи.

В лаборатории Грина с помощью специальной обработки элементарную частицу удалось разделить на четыре комплекса и выделить их в чистом виде:



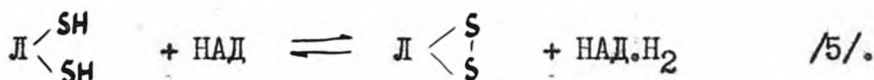
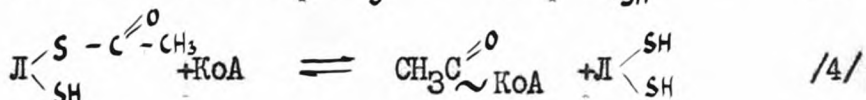
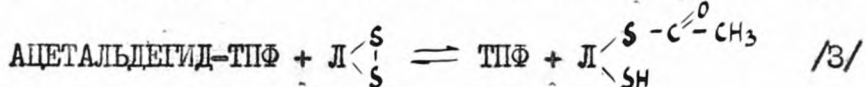
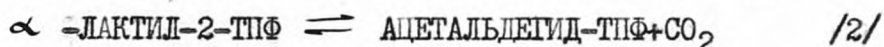
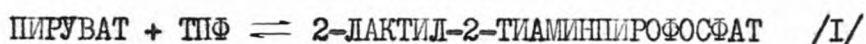
Комплекс 1 - НАД Н₂: убихинон - оксидоредуктаза /1.6.5.3/;
 комплекс 2 - сукцинат: убихинон - оксидоредуктаза /1.3.99.1/;
 комплекс 3 - убихинон: цитохром С - оксидоредуктаза и
 комплекс 4 - цитохром С - оксидаза. Все четыре комплекса, соединяясь в определенных молекулярных соотношениях, образуют одну функциональную единицу /Грин, Флейшер, 1964/. Высокоочищенные препараты этих комплексов не могут осуществлять реакции окислительного фосфорилирования. Это дало основание Ленинджеру /1966/ высказать предположение о том, что, по-видимому, до настоящего времени еще не все переносчики электронов идентифицированы.

Состав матрикса окончательно не расшифрован. Полагают /Грин, 1962; Ленинджер, 1966/, что ферменты синтеза белка, фосфолипидов, жирных кислот, а также часть ферментов цикла Кребса лока-

лизованы в матриксе.

Механизм реакции лимоннокислого цикла был расшифрован в 1935 году Кребсом. Цикл аэробного окисления начинается с превращения пировиноградной кислоты в ацетил-КоА с участием комплекса ферментов, названного пируватоксидазой, в состав которого входят белки ферментов дегидрогеназы /1.2.2.2/ и декарбоксилазы /4.1.1.1/ пирувата, а также коэнзимы: НАД, тиаминпирофосфат /ТПФ/, липоевая кислота / $L\begin{smallmatrix} S \\ | \\ S \end{smallmatrix}$ /, КоА и ионы магния /Михлин, 1960/.

Сначала пируват соединяется с тиаминпирофосфатом с образованием α -лактил-2-тиаминпирофосфата /реакция 1/, последний декарбоксилируется и образуется активный ацетальдегид или 2-оксипропаналь /реакция 2/.



Ацетильная группа пирофосфата переносится на альфа-липоильную группу с образованием тиаэфира /реакция 3/. Акцептором водорода в этой реакции является сульфид липоильной группы ферментов. Ацетильный остаток переносится на КоА и образуется ацетил-КоА, а восстановленная ацетильная группа окисляется с участием НАД /реакция 5/. Ацетил-КоА конденсируется со щавелевоуксусной кислотой и образуется лимонная кислота. Цепь последующих реакций окисления пирувата до углекислого газа и воды показана на рис.1

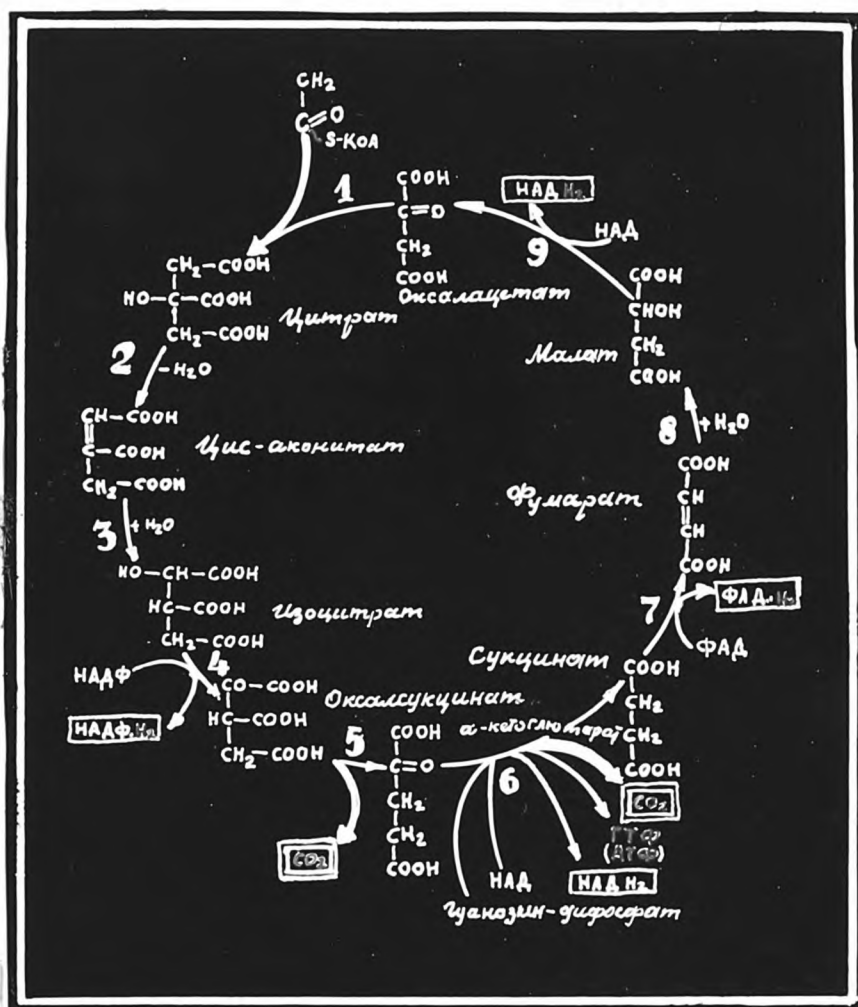


Рис. I. Цикл трикарбоновых кислот.

1. Конденсирующий фермент.
2. Цитрат-гидро-лиаза /4.2.1.4/.
3. Аконитатгидратаза /4.2.1.3/.
- 4,5. Исоцитрат: НАДФ- оксидоредуктаза /декарбоксилирующая I.I.I.42/.
6. Окислительное декарбоксилирование /I.I.I./.
7. Сукцинат: ФАД-оксидоредуктаза /I.3.99.I/.
8. Фумаратгидратаза /4.2.1.2/.
9. Малат: НАД-оксидоредуктаза /I.I.I.37/.

Окисление пирувата в цикле Кребса сопровождается пятикратным дегидрированием и трехкратным декарбоксилированием. Сущность этого процесса состоит в том, что дегидрирование субстратов сопровождается образованием двух активных электронов. Важнейшей функцией митохондрий является преобразование энергии этих электронов в макроэргические соединения. В этом аспекте цикл трикарбоновых кислот можно рассматривать как некий механизм, снабжающий высокоэнергетическими электронами "топку", где сгорают субстраты. По образному выражению Грина и Флейшера /1964/, такой "топкой" является цепь переноса электронов, конечным акцептором которых является кислород.

Впервые синтез АТФ был обнаружен Энгельгардтом в 1930 году на ядерных эритроцитах. В 1939 году Белицер и Цибакова, изучая дыхание в кашице разных органов, обнаружили, что отношение поглощения неорганического фосфата из инкубационной среды к поглощенному кислороду /коэффициент $P:O$ / при окислении одной молекулы субстрата больше единицы, предполагаемой теоретически. По мнению этих авторов, завышенный коэффициент $P:O$ является результатом синтеза АТФ при транспорте электронов по дыхательной цепи.

Синтез АТФ из АДФ и неорганического фосфата, сопряженный с транспортом электронов по дыхательной цепи, называют окислительным фосфорилированием.

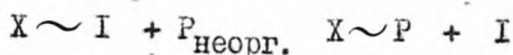
Дальнейшие исследования с применением различных ингибиторов дыхания / *Potter, Reif* , 1951; *Mayers, Slater* , 1957a; Эрнстер, 1962; и др. / и субстратов окисления / *Cooperhaver* , *Lardy* , 1952; *Borgstrom* и др., 1955; *Cooper* и др., 1955; *Cooper, Lehninger* , 1956, 1956a; Северин С.Е., 1964 / позволи-

ли установить пункты фосфорилирования в дыхательной цепи:



Фосфорилирование, наблюдаемое при окислении α -кетоглутаровой кислоты называют субстратным, оно осуществляется комплексом ферментов, сходным с таковым при окислении пирувата /стр.45/ Окисление субстратов с участием НАД сопровождается трехкратным, сукцината - двукратным, цитохрома С - однократным фосфорилированием /Cooper, Zehninger, 1956; Hülsman, Slater, 1957; Северин С.Е., 1962; Эрнстер, 1962/.

Следует отметить, что до настоящего времени химизм реакции синтеза АТФ еще окончательно не расшифрован. Предложено много схем механизма окислительного фосфорилирования /Chance, Williams, 1955; Slater, 1957; Mayers, Slater, 1957a; Purvis, 1960 и др./, однако ни одна из них полностью не объясняет механизма этого процесса. По Slater /1957/, Слайтер, /1962/, Слайтер и др. /1962a/ механизм окислительного фосфорилирования осуществляется по схеме:



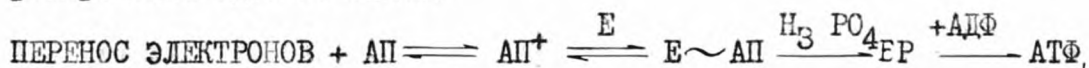
где А и В - соседние члены фосфорилирующего участка дыхательной цепи;

I - интермедиант, обеспечивающий сохранение энергии в $A \sim I$;

X - неизвестный фактор.

Попытки выделить этот фактор не увенчались успехом, что ставит под сомнение его существование /Скулачев, 1964/.

Представляет большой интерес данные Скулачева /1965/ о механизме окислительного фосфорилирования, в котором важная роль отводится адениннуклеотидам. Аденозинтрифосфорная кислота, по мнению этого автора, является не просто акцептором макроэргического фосфата, но и участником трансформации энергии активных электронов в макроэргические связи /Скулачев, 1964а, 1964; Скулачев и др., 1966а/. Согласно концепции Скулачева, окислительное фосфорилирование идет по схеме:



где АП - адениннуклеотид, встроенный в молекулу дыхательного переносчика;

E - энзим цепи переноса электронов.

За последние годы появилось новое направление в изучении механизма окислительного фосфорилирования. Многие исследователи пошли по пути расчленения ферментов митохондрий на более простые энзиматические комплексы, которые в последующем выделяются и подвергаются исследованию. Так, при обработке дигитонином

/ Cooper и др., 1955, 1956, 1956a; Delvin, Lehninger, 1956; Cooper, Lehninger, 1957; Cooper, 1960; Ленинджер, 1962/ получены субмитохондриальные частицы, способные окислять β -оксимасляную кислоту, НАД.Н₂ и цитохром С.

В лаборатории Грина получены частицы, способные переносить электроны по дыхательной цепи без окислительного фосфорилирования, представляющие собой фрагменты внешней мембраны, и частицы, осуществляющие сопряженный транспорт электронов с синтезом АТФ, в структуре которых содержится наружная и внутренняя мембраны / Green и др., 1957, 1957a, 1963; Грин, 1961, 1964/. Webster /1965/ получил субмитохондриальные частицы, окисляющие цитохром С с максимальным коэффициентом Р:О, из которых был выделен белок, способный катализировать реакцию синтеза АТФ из АДФ и неорганического фосфата.

Большой интерес представляют морфологические изменения митохондрий в процессе дыхания и окислительного фосфорилирования.

Имеется определенная взаимосвязь между морфологической организацией митохондрий и функциональным состоянием клетки. В покоящейся клетке и в состоянии готовности к активной деятельности митохондрии имеют вид уплотненных гранул или овалов с хорошо выраженным матриксом. При кратковременной интенсивной или длительной умеренной нагрузке, а также при взаимодействии радиоактивных излучений наркотических веществ, ультразвука и других повреждающих агентов митохондрии набухают, становятся округлыми с менее выраженным матриксом /Шабадаш, 1966/.

Работами Монахова /1964, 1966/ показана морфологическая и функциональная гетерогенность митохондрий. Получено четыре фрак-

ции митохондрий сердечной мышцы, которые отличаются друг от друга интенсивностью процессов дыхания и окислительного фосфорилирования. Куфф и Шнейдер /1957/ установили биохимическую гетерогенность митохондрий печени мышей. При осуществлении окислительных процессов постоянно меняется объем митохондрий. Увеличение объема этих гранул называют набуханием, а уменьшение его - сокращением. Различают активное изменение объема, связанное с окислительными процессами, и пассивное - зависящее от осмотического давления среды, в которой находятся митохондрии.

Активное набухание ингибируется цианидом /*Newbert* и др., 1962/ и индуцируется добавкой субстратов окисления /*Witter* и др., 1956; *Chappel и др.*, 1960, 1961/ неорганического фосфата, тироксина, глутатиона /*Newbert* и др., 1962/ и жирных кислот /*Wojtczak* и др., 1960; *Zwozowsky* и др., 1963/. Согласно концепции Ленинджера /1962, 1964/ конформационные изменения, а также окислительное фосфорилирование реализуются ферментами дыхательной цепи митохондриальных мембран. Изменения объема митохондрий регулируются уровнем эндогенного АТФ в них и осуществляются актомиозиноподобным белком, который был выделен из гранул печени /*Нейфах*, 1964; Казакова, 1964, 1965/. По мнению этих авторов, высокий уровень АТФ вызывает сокращение и уменьшение проницаемости митохондриальных мембран для субстратов дыхания. Вслед за этим снижается уровень окислительных процессов и концентрация АТФ, конформация актомиозина изменяется, что сопровождается набуханием и улучшением проницаемости мембран митохондрий для субстратов дыхания. Последующее усиление окислительных процессов и увеличение концентрации эндогенного АТФ вызывает

сокращение митохондрий /Казакова, 1965/.

Таким образом, изменения проницаемости мембран для субстратов дыхания играют большую роль в регуляции окислительных процессов в митохондриях.

Анализ данных литературы позволяет сделать вывод о том, что значение глутаминовой кислоты для организма определяется не только высоким количественным содержанием её во всех органах и тканях, но, главным образом, её активным участием во многих видах обмена. Это — основной "шунт", посредством которого осуществляется взаимосвязь обмена белков, углеводов и отчасти жиров. Характерной чертой в метаболизме глутаминовой кислоты является её высокая реакционная способность. Она легко вступает в различные химические реакции, участвует в регуляции важнейших функций организма, а также процессов дыхания и окислительного фосфорилирования.

Несмотря на существование противоречивых суждений о механизме действия глутаминовой и γ -аминомасляной кислот, роль этих соединений в регуляции деятельности нервной системы общепризнана. Нельзя не отметить, что доминирующего положения глутаминовой кислоты в связывании свободного аммиака и в регуляции аэробного окисления в нервной системе. Кроме того, имеются основания полагать, что это соединение стимулирует функцию гипофиз-адреналовой системы и функцию щитовидной железы. Однако роль глутаминовой кислоты этим не исчерпывается.

Особо важным представляется её регулирующее влияние на процессы, протекающие в митохондриях. Глутаминовая кислота способна быстро окисляться в этих гранулах благодаря наличию в них практически всех ферментных систем, участвующих в превращениях этого

соединения. Тот факт, что глутаминовая кислота является также и энергетическим источником, вызвал пристальное внимание исследователей, и именно поэтому она нашла широкое применение как субстрат дыхания для изолированных митохондрий.

Нельзя не отметить, что до сих пор обмен глутаминовой кислоты в митохондриях изучался главным образом в опытах *in vitro*. Такие эксперименты позволили выявить очень важные стороны метаболизма этого соединения. В частности, было показано, что его обмен может происходить по следующим путям:

- переаминирование со многими кетокислотами, которое наиболее легко осуществляется со щавелевоуксусной кислотой;
- окислительное дезаминирование с выделением α -кетоглутарата и свободного аммиака;
- декарбоксилирование и превращение её в γ -аминомасляную кислоту.

Однако результаты этих экспериментов представляют ограниченный интерес, поскольку в опытах *in vitro* не может быть учтено влияние важнейших регуляторных механизмов нервной и эндокринной систем на метаболизм глутаминовой кислоты в митохондриях. Более того, эти эксперименты осуществлялись в основном на изолированных митохондриях интактных животных. Более ценные результаты о характере обменных процессов могут дать опыты *in vivo*. С этой точки зрения, особый интерес представляют данные о стимуляции аэробных окислительных процессов в организме в условиях гипоксии при введении глутаминовой кислоты. О характере течения этих процессов судили на основании определения в тканях содержания гликогена, АТФ, креатинфосфата и недоокисленных продуктов обмена. Однако такие тесты могут быть лишь косвенными показателями изменения дыхания и окисли-

тельного фосфорилирования в митохондриях и поэтому недостаточно полно раскрывают механизм действия глутаминовой кислоты на аэробные окислительные процессы в организме.

Следует также отметить, что стимулирующее влияние этой аминокислоты на окислительные процессы; а также на функцию гипофизадреналовой системы и щитовидной железы, гормоны которых играют важную роль в регуляции дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях, проявляется в состоянии стресса /гипоксия, оперативное вмешательство и т.д./. Предполагается, что при этом нормализующее влияние глутаминовой кислоты на окислительные процессы осуществляется не только непосредственным участием её в различных видах метаболизма, но и опосредованно: через нейроэндокринную систему. Однако это предположение требует экспериментальной проверки.

Таким образом, механизм действия глутаминовой кислоты на аэробные окислительные процессы в организме, находящемся в состоянии стресса /гипоксия, оперативное вмешательство/ выяснен недостаточно.

Исходя из вышеизложенного, задача настоящего исследования заключалась в выявлении влияния глутаминовой кислоты *in vivo* на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях, выделенных из печени животных, находившихся как в условиях с нормальным содержанием кислорода во вдыхаемом воздухе, так и в состоянии гипоксии. В других сериях экспериментов представлялось целесообразным провести опыты на адреналэктомированных и тиреоидэктомированных животных, и часть исследований посвятить изучению влияния глутаминовой кислоты на указанные процессы в митохондриях регенерирующей печени.

ГЛАВА II. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводились на нелинейных крысах — самцах весом от 110 до 240 г. Животные находились на общем рационе. Накануне опытов, за 16–20 часов, их отсаживали в отдельные клетки и лишали пищи. В эксперимент одновременно брали двух животных: контрольное и подопытное, разница в весе которых составляла не более 20 г. Всего в опытах было использовано 320 крыс. На каждый опыт брали по одному животному.

Митохондрии из печени выделяли по методу Хогбума и Шнейдера /1957/ с незначительной модификацией. После декапитации животного быстро брали нужное количество печени и погружали её в ледяной 0,25M раствор сахарозы. Затем осушали её фильтровальной бумагой, помещали в охлажденную ступку и измельчали ножницами до кашецеобразной консистенции. Два г измельченной печени помещали в охлажденный стеклянный гомогенизатор, добавляли 8 мл 0,25M раствора сахарозы и гомогенизировали её на холоду в течение двух минут при 600–800 оборотах в минуту. Затем добавляли охлажденный 0,25M раствор сахарозы до получения 10% гомогената и вновь гомогенизировали 30 сек при тех же оборотах. Полученный гомогенат центрифугировали на рефрижераторной центрифуге типа ЦПР-I /г.Фрунзе/ при 800 g в течение 10 минут. Надосадочную жидкость сливали в другие пробирки и центрифугировали 15 минут при 8000–9000 g . Полученный осадок митохондрий взвешивали в 3–3,5 мл 0,25M раствора сахарозы. Для исследований брали 0,5 мл этой взвеси, содержащей 1,5–2 мг азота. Температура среды выделения митохондрий в конце этих процедур не превышала +40°C.

Контроль за целостностью структуры выделенных митохондрий осуществлялся электронной микроскопией. На рис.2 представлены электронные микрофотографии, на которых четко видна сохранность оболочек /1/ и крист /2/.

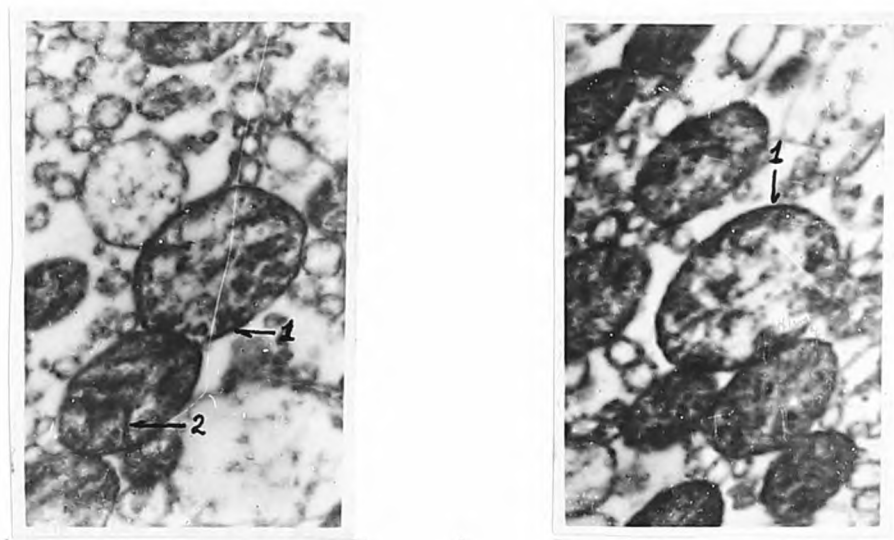


Рис.2. Электронные микрофотографии изолированных митохондрий печени. Общее увеличение ~ 25000.

Определение дыхания и окислительного фосфорилирования

Дыхание митохондрий изучали манометрическим методом в аппарате Варбурга типа АГ-1 /г.Фрунзе/ прямым способом по методике, описанной Умбрейтом и др. /1951/. Калибровку сосудов и манометров производили ртутным методом.

Инкубационная среда /конечный объем 2 мл/ для изучения дыхания и окислительного фосфорилирования содержала: 40 мМ фосфатного буфера /рН = 7,4/; 10 мМ хлористого магния; 5 мМ АТФ /рН = 7,4/; 2 мМ ЭДТА /рН = 7,4/; 80 мМ глюкозы; 10 мМ кетоглута-

рата /рН = 7,4/; 20ммМ фторида калия; 3 единицы дрожжевой гексокиназы /2.7.1.1. Скулачев, 1962/. Газовая среда - атмосферный воздух.

В главное пространство сосудов наливали 1,5 мл инкубационной смеси, в боковые отростки - 0,5 мл взвеси митохондрий, а в центральные стаканчики - 0,2 мл 15% раствора щелочи. Сосудики присоединяли к манометрам и помещали на 10 минут в термостат аппарата Варбурга для выравнивания температуры. Затем устанавливали уровень жидкости в правом колене на деление 150, перекрывая краны, смешивали взвесь митохондрий с инкубационной средой и отмечали время. Дыхание в этих гранулах определяли в течение 15 минут при температуре 26°C. Реакцию останавливали путем добавления 2 мл 10% раствора трихлоруксусной кислоты.

Результаты анализов выражали в микроатомах /мкА/ кислорода или фосфора на 1 мг азота митохондрий в час /Mc Kean и др., 1959/. О характере окислительного фосфорилирования судили по коэффициенту Р:О.

Неорганический фосфат определяли по методу Фiske-Суббароу, азот митохондрий - колориметрическим методом с реактивом Несслера /Асатиани, 1939/.

Аденозинтрифосфатазную активность /3.6.1.4/ определяли в среде, состоящей из 1,6 мл 0,25М раствора сахарозы, 0,2 мл взвеси митохондрий, 0,2 мл АТФ /20 мг АТФ в 1 мл раствора, рН = 7,4/. Об активности фермента судили по нарастанию неорганического фосфата в инкубационной среде /Скулачев, 1962/.

Оптическую плотность митохондрий определяли спектрофотометрически при 520 мкм. Митохондрии взвешивались в 0,25М раствора а-

харозы, приготовленном на 0,02М растворе трис-буфера /Этингоф и др., 1963/.

Гексокиназу /2.7.1.1/ получали по методу *Sols* и др./1958/ с незначительной модификацией. Свежие прессованные пекарские дрожжи /0,5 кг/ тщательно растирали с 30 мл толуола, после чего помещали их в термостат при температуре 37°C до тех пор, пока дрожжи не достигали состояния полного разжижения. Затем их смешивали с равным объемом 0,01М раствора этилендиаминтетраацетата /ЭДТА, pH = 7,4/ и оставляли стоять при комнатной температуре 3 дня. После чего эту взвесь центрифугировали при 8000 g в течение 30 минут в рефрижераторной центрифуге. К центрифугату добавляли сульфат аммония из расчета 0,35 г на 1 мл фугата до 55% насыщения и оставляли стоять на холоде 1-2 часа. Выпавший осадок удаляли путем повторного центрифугирования на указанной центрифуге при 18000 g в течение 20 минут. К надосадочной жидкости вновь добавляли сульфат аммония в количестве 0,13 г на 1 мл, повышая тем самым насыщение до 75% и оставляли на холоде на 4-6 часов. По истечении этого времени смесь центрифугировали на холоду при 18000 g 20 минут. Надосадочную жидкость отбрасывали. Осадок растворяли в двух объемах 0,001М раствора ЭДТА /pH=7,4/ и диализовали в целлофановом мешочке без шва против 0,001М раствора ЭДТА /pH=7,4/ на холоде в течение 48 часов. Выпавший осадок удаляли центрифугированием при 18000 g в течение 10-15 минут. Надосадочную жидкость, содержащую гексокиназу /2.7.1.1/, расфасовывали в ампулы по 2 мл и хранили в замороженном состоянии при температуре -10-15°C.

Стандартизацию гексокиназы производили следующим образом: митохондрии инкубировали в среде^{х/}, содержащей разное количество гексокиназы /2.7.1.1/ и определяли дыхание и окислительное фосфорилирование. Количество раствора фермента в миллилитрах, в присутствии которого достигался максимальный коэффициент Р:О, принимали за единицу. В приведенном примере /таблица I/ за единицу гексокиназы /2.7.1.1/ было принято 0,07 мл. Для определения окислительного фосфорилирования в инкубационную среду добавляли 3 единицы этого энзима.

Таблица I

Определение единицы гексокиназы /средние данные из двух определений/

Количество гексокиназы в мл	Поглощение кисло- рода в мкА за 15 минут инкубации	Поглощение фосфо- ра в мкА за 15 минут инкубации	Р:О
0,01	6,06	14,69	2,42
0,03	6,47	17,26	2,67
0,07	5,39	19,80	3,68

Для работы использовали реактивы со степенью чистоты Х.Ч. и Ч.Д.А. и запасали их с таким расчетом, чтобы хватило для проведения нескольких серий опытов.

^{х/} Состав инкубационной среды: фосфатный буфер /рН = 7,4/ - 40 мкМ; хлористый магний - 10 мкМ; АТФ /рН = 7,4/ - 5 мкМ; ЭДТА /рН = 7,4/ - 2 мкМ; глюкоза - 80 мкМ; α -кетоглутарат /рН = 7,4/ - 10 мкМ; фторид калия - 20 мкМ; количество дрожжевой гексокиназы /2.7.1.1/ указано в таблице I.

Техника проведения операций

Операции проводились с соблюдением асептики. Для обезболивания применялся эфирный наркоз.

Операция адреналэктомии

После обработки кожных покровов 5% спиртовым раствором йода делали срединную лапоротомию. Одним крючком захватывали и поднимали вверх печень, вторым — отодвигали кишечник и тем самым обеспечивали доступ к правой почке. Надпочечник осторожно захватывали пинцетом и поднимали вверх. На отходящие от него кровеносные сосуды накладывали зажим, а затем лигатуру. После чего зажим снимали и отсекали надпочечник. Таким же образом удаляли и левый надпочечник. Накладывали послойные швы на рану.

Известно /*Siljveroot*, *Hall*, 1965/, что после адреналэктомии из организма усиленно выводятся ионы натрия, поэтому с целью заместительной терапии животным давали пить 1% раствор хлористого натрия.

Операция тиреоидэктомии

После дачи наркоза производили удаление шерсти на шее в области щитовидного хряща. Операционное поле обрабатывали 96° спиртом и, придерживаясь средней линии, делали рассечение кожных покровов от переднего угла нижней челюсти длиной 1,5-2 см. Кожу отводили крючками в стороны, тупым путем раздвигали мышцы шеи и обнажали щитовидную железу. Пинцетом захватывали за нижний край левой доли этой железы и отсепарировывали её тупым способом, одновременно с этой долей удаляли и перешеек. Затем таким же путем удаляли правую долю. Кровотечение останавливали, прижимая кровоточащие сосуды стерильными ватными шариками.

ми. После этого накладывали непрерывный шов на кожу. В послеоперационном периоде животных содержали на обычной диете и через 6-7 дней их брали в опыт.

Операция гепатэктомии /по Higgins , Anderson , 1931/

После дачи эфирного наркоза и обработки кожных покровов 5% спиртовым раствором йода делали срединную лапаротомию от мечевидного отростка длиной 3-4 см. Край раны раздвигали крючками, захватывали среднюю долю печени марлевой салфеткой, выводили её в разрез и следом за ней появлялась левая боковая доля, которая таким же способом выводилась в рану. Затем накладывали лигатуру на кровеносные сосуды этих долей и отсекали их. Послойные швы на рану. В наших опытах удалялось 65-70% печени.

Состояние гипоксии у животных создавалось в приточно-вытяжной барокамере посредством откачивания из нее воздуха вакуумным насосом. В течение 8-10 минут в барокамере создавали разрежение воздуха, соответствующее высоте 7500-8000 метров. Животные находились в этих условиях в течение 2-х часов.

Подопытной группе крыс вводили глутаминовую кислоту подкожно из расчета 1 мг на 1 г веса животного в виде 10% глутамата натрия /Генкин, Удinceв, 1958/, а контрольной - соответствующий объём физиологического раствора. Животных, находившихся в условиях с нормальным содержанием кислорода во вдыхаемом воздухе, забивали через 3,5-4 часа после инъекций. В другом варианте экспериментов, через 1,5-2 часа после введения растворов крыс помещали в барокамеру на 2 часа, а затем быстро извлекали их и декапитуировали.

Отдельные уточнения условий опытов будут излагаться непосредственно в соответствующих главах.

Полученные результаты обрабатывались статистически по методике, описанной Бельским /1963/. Определение средней арифметической производилось по уравнению 1:

$$M = \frac{\sum x}{n}, \text{ где} \quad /1/$$

M - средняя арифметическая вариационного ряда;

$\sum$ - знак суммирования стоящих после него величин;

n - число опытов.

Для определения стандартной ошибки находили величину отклонения каждого из членов вариационного ряда от средней арифметической. Каждое отклонение возводили в квадрат и суммировали их. Последующие расчеты производились по уравнению 2:

$$m = \sqrt{\frac{\sum (x - M)^2}{n(n-1)}}, \text{ где} \quad /2/$$

m - стандартная ошибка средней арифметической;

$\sum (x - M)^2$ - сумма квадратов отклонений;

n - число экспериментов.

Для оценки различия между сравниваемыми средними использовали тест t , который вычисляли по уравнению 3:

$$t = \frac{M_1 - M_2 \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}}}{\sqrt{\frac{\sum (x_1 - M_1)^2}{n_1 + n_2 - 2} + \frac{\sum (x_2 - M_2)^2}{n_1 + n_2 - 2}}}, \text{ где} \quad /3/$$

M_1 и M_2 - средние арифметические сравниваемых величин;

n_1 и n_2 - количество опытов;

$\sum (x_1 - M_1)^2$ и $\sum (x_2 - M_2)^2$ - суммы квадратов отклонений первого и второго вариационных рядов.

Вычисленное значение t сравнивали с аналогичным показателем таблицы Стюдента-Фишера /Беленький, 1963/. Различие между сравниваемыми средними величинами считалось существенным при $P < 0,05$.

Для построения графиков определяли доверительные границы. Интервал, в котором находится истинное значение средней арифметической при заданном уровне вероятности /в наших опытах $P=0,05$ / называют доверительным интервалом, а его границы - доверительными границами. Доверительные границы определяли по уравнениям 4 и 5:

$$M - mt \quad /4/ \quad M + mt \quad /5/ \quad \text{где}$$

M - среднее арифметическое;

m - стандартная ошибка средней арифметической.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ГЛАВА III. ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ ИНТАКТНЫХ И АДРЕНАЛ-ЭКТОМИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ В НОРМЕ И ПРИ ГИПОКСИИ

I. Эксперименты на интактных животных

Показано, что подкожное введение глутаминовой кислоты в условиях гипоксии улучшает аэробные окислительные процессы в тканях подопытных животных, повышает содержание углеводных резервов и макроэргических соединений типа АТФ /Генкин, 1958; Гефтер и др., 1962/. Поскольку ферменты, осуществляющие цикл трикарбоновых кислот, локализованы в митохондриях, представлялось интересным исследовать влияние введения животным этой аминокислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени в норме и при гипоксии.

Анализируя результаты экспериментов /таблица 2/ по влиянию введения глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени крыс, находившихся в нормальных условиях, можно отметить, что дыхание в контрольной группе животных составляет 9,87 мкА, а в подопытной - 10,95 мкА кислорода. Увеличение дыхания после введения глутаминовой кислоты на 10% статистически недостоверно $P > 0,25$ /. Нет различий и в поглощении неорганического фосфата из инкубационной среды, а коэффициенты $P:O$ в контроле и опыте почти равны между собой /контроль - 3,39, опыт - 3,37/.

Таблица 2

Влияние введения глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени крыс, находившихся в нормальных условиях

№ опытов		Поглощение кислорода в мкА на 1 мг азота митохондрий в час		Поглощение фосфора в мкА на 1 мг азота митохондрий в час		P:O	
I	2	I	2	I	2	I	2
31	32	7,53	9,38	22,20	30,56	2,97	3,25
52	52a	10,01	11,28	36,04	35,83	3,60	3,17
53	53a	10,38	11,72	35,26	36,83	3,40	3,14
60	60a	9,46	9,26	28,87	28,85	3,05	3,12
61	61a	11,16	12,56	37,62	43,79	3,24	3,48
62	62a	12,34	14,20	37,10	43,64	3,00	3,07
67	67a	13,02	13,47	41,98	45,20	3,22	3,36
69	68a	7,30	9,91	27,89	34,48	3,80	3,47
70	69a	9,43	9,20	35,55	36,12	3,76	3,92
71	71a	8,12	8,55	31,55	31,95	3,87	3,73
M		9,87± ±0,61	10,95± ±0,63	33,40± ±1,82	36,72± ±1,82	3,39± ±0,11	3,37± ±0,09
Соотношение в процентах		100	110	100	110	100	99
P		-	> 0,25	-	> 0,25	-	-

1 - группа контрольных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 - группа подопытных животных, которым вводилась глутаминовая кислота.

Из литературы известно /*Copenhagen, Lardy*, 1952; Скулачев, 1962/, что α -кетоглутаровая кислота в митохондриях окисляется с коэффициентом R:O от 3,2 до 3,6. В наших экспериментах этот коэффициент равен 3,39, что свидетельствует о соответствии обсуждаемых результатов с данными литературы. Результаты этих экспериментов хорошо согласуются также с данными Генкина и Удинцева /1958/, показавших, что в таких же условиях опыта глутаминовая кислота не оказывает влияния на поглощение кислорода организмом животного. Эти авторы, а также Клейн /1956/, полагают, что данная аминокислота оказывает свое действие лишь при нарушении обменных процессов в организме.

Наиболее значительные сдвиги в тканевом дыхании следовало ожидать в условиях гипоксии, и поэтому была проделана серия опытов с целью выяснения влияния глутаминовой кислоты на аэробные окислительные процессы в митохондриях печени крыс, находившихся в условиях недостатка кислорода.

Оказалось, что введение глутаминовой кислоты крысам за 1,5-2 часа до помещения их на 2 часа в барокамеру стимулирует дыхание в митохондриях печени на 19,6% по сравнению с митохондриями, выделенными из печени крыс, получавших физиологический раствор и находившихся вместе с подопытными животными в барокамере /таблица 3/.

Важно отметить отсутствие статистически достоверных различий в коэффициенте R:O в митохондриях печени контрольной и подопытной групп животных. В контроле этот коэффициент составляет 3,22, в опыте - 3,02 /таблица 3/. Следовательно, можно сделать вывод о том, что, наряду со стимуляцией дыхания в митохондриях печени, глутаминовая кислота в такой же степени увеличивает

Таблица 3

Влияние введения глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени крыс, находившихся в условиях гипоксии

№ опытов		Поглощение кислорода в мкА на I мг азота митохондрий в час		Поглощение фосфора на I мг азота митохондрий в час/мкА/		P:O	
I	2	I	2	I	2	I	2
22	23	9,15	10,77	28,18	29,51	3,07	2,74
24	25	9,00	10,84	25,71	28,83	2,85	2,65
49	49a	10,69	12,29	27,76	30,36	2,73	2,48
54	54a	9,96	11,03	33,15	35,23	3,32	3,19
55	56a	8,17	13,09	23,06	39,18	2,81	3,00
57	57a	8,53	10,27	32,33	32,39	3,79	3,15
58	58a	11,29	12,16	33,92	39,04	3,01	3,22
63	63a	10,95	14,30	40,23	46,89	3,69	3,40
64	64a	12,77	14,23	45,54	45,76	3,56	3,22
66	65a	10,75	11,11	36,05	35,03	3,35	3,18
	66a	-	13,19	-	40,52	-	3,07
M±m		10,12± ± 0,45	12,11± ± 0,43	32,59± ± 2,16	36,61± ± 1,88	3,22± ± 0,12	3,02± ± 0,09
Соотношение в процентах		100	119,6	100	112	100	94
P		-	< 0,01	-	> 0,1	-	> 0,5

I - группа контрольных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 - группа подопытных животных, которым вводилась глутаминовая кислота.

синтез макроэргических фосфорных соединений типа АТФ. Стимулирующее влияние глутаминовой кислоты на аэробные окислительные процессы в опытах *in vitro* ранее было обнаружено также на срезах мозга / Krebs , 1935; Well-Malherbe , 1950; Mc Ivan и др. 1951; Selinger и др., 1962/, в ядерных эритроцитах /Северин, 1937/, в гомогенатах мозга /Mc Kinnon и др., 1959/ и печени /Krebs , Bellamy , 1960/.

Добавка глутаминовой кислоты в инкубационную среду повышает дыхание гомогенатов мышц, полученных от отравленных фторидом натрия крыс / Margreth и др., 1964/.

С этими данными литературы также согласуются результаты экспериментов, посвященных изучению дыхания и окислительного фосфорилирования изолированных митохондрий печени с применением в качестве субстратов дыхания пирувата, β -оксибутирата, цитрата и глутамата. Установлено, что в опытах с глутаминовой кислотой дыхание митохондрий значительно выше, чем с другими субстратами окисления. Параллельно с этим увеличивается и синтез макроэргических фосфорных соединений /Liljevoet , Hall , 1965/.

Полученные результаты по стимулирующему влиянию введения глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени крыс, находящихся в условиях гипоксии, естественно, позволяют предполагать возможные механизмы этой стимуляции.

Как отмечалось ранее, глутаминовая кислота широко используется как субстрат дыхания для изолированных митохондрий различных органов и тканей. Указывалось также и на то, что в ряде случаев поглощение кислорода митохондриями с глутаминовой кислотой зна-

чительно выше, чем с другими субстратами окисления, например, с β -оксипутиратом или цитратом /*Liljevoet, Hall, 1965* и др./ Кажущееся на первый взгляд правдоподобным предположение о том, что после введения глутаминовой кислота накапливается в клетках печени, и как следствие этого увеличивается дыхание в митохондриях этого органа, экспериментально не подтверждено. В частности, Никифоров /1966/ наблюдал нормализацию содержания глутаминовой кислоты уже через 2 часа после её введения животным, находившимся в условиях гипоксии. В наших исследованиях дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени исследовалось спустя 4 часа после введения глутаминовой кислоты. Поэтому накопление её в митохондриях тем более исключается.

Согласно наблюдениям ряда исследователей /Северин, 1960; Ленинджер, 1964/, при сопряжении дыхания с окислительным фосфорилированием набухания митохондрий не происходит. При этом *Racker* /1963/ отметил лишь незначительное изменение их объёма, связанное с функциональным состоянием митохондрий. В работе Северина показано, что ансерин, карнозин и в некоторой степени гистидин предупреждают старение митохондрий и тем самым создается впечатление стимулирующего влияния этих соединений на окислительное фосфорилирование. В связи с этим возникло предположение о том, что глутаминовая кислота подобно гистидину предупреждает старение митохондрий печени, что является причиной увеличения дыхания в этих гранулах. С целью проверки этого предположения были проделаны опыты, в которых определялось влияние введения глутаминовой кислоты на набухание митохондрий, выделенных из печени крыс, находившихся в условиях гипоксии /рис.3/. Результаты этих исследований свидетельствуют о том, что глутамат не влияет на набухание митохондрий

печени, поскольку нет различия в изменении оптической плотности этих гранул между контрольной и подопытной группами.

Как уже отмечалось, глутаминовая кислота повышает содержание в крови кортикостероидных гормонов /Удинцев и др., 1966, 1966а/ и адреналина /Himmwich, Petersen, 1954; Well-Malerbe, 1955/.

Установлена важная роль этих гормонов в регуляции дыхания и окисли-

тельного фосфорилирования в митохондриях /Утевский, 1939, 1964; Юдаев, 1963; Liljeroot, Hall, 1965/. Отмеченные факты позволяют предполагать, что один из возможных путей стимулирующего влияния глутаминовой кислотой на эти процессы, возможно, опосредован через кортикостероидные гормоны. Для выяснения этого предположения были проделаны опыты на адреналэктомированных животных.

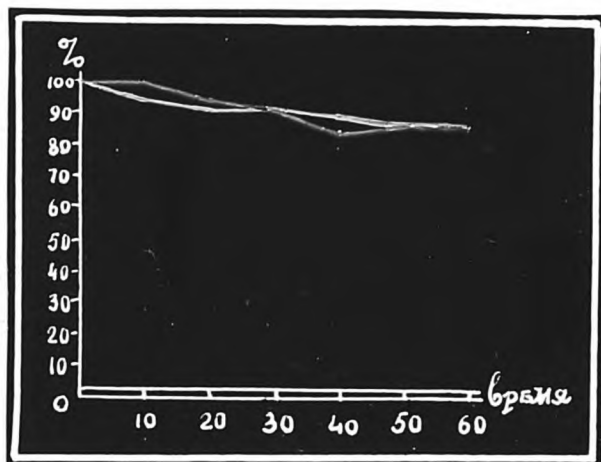


Рис. 3. Изменение оптической плотности митохондрий, выделенных из печени крыс, находившихся в условиях гипоксии /средние данные из 3 опытов в процентах к исходной экстинкции/

- группа контрольных животных, которым вводился физиологический раствор;
- - группа подопытных животных, которым вводилась глутаминовая кислота.

2. Эксперименты на адреналэктомированных животных

В таблице 4 приведены результаты опытов по влиянию адреналэктомии на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени. В неоперированной группе животных /контроль/ дыхание составляет в среднем 9,87 мкА кислорода, а у адреналэктомированных /опыт/ 12,15 мкА, то-есть дыхание на 23% / $P < 0,05$ / выше, чем в контроле. Увеличение дыхания в данном случае не сопровождается усилением окислительного фосфорилирования, об этом свидетельствуют цифры по этерификации неорганического фосфата. В контрольной группе убыль неорганического фосфата составляет 33,40, а в подопытной - 33,67 мкА фосфора. Поэтому стимуляция дыхания митохондрий печени у адреналэктомированных животных сопровождается снижением коэффициента $P:O$ с 3,39 до 2,77, то-есть на 19% /таблица 4/.

Результаты наших опытов находятся в соответствии с экспериментальными данными, свидетельствующими о повышении окисления глюкозы тканями в опытах *in vivo* /*Evans*, 1941/, а также изолированными мышцами диафрагмы /*Villee*, *Hastings*, 1949/, полученными на адреналэктомированных животных. Исследования, посвященные влиянию экстракции надпочечников на жировой обмен, показали усиление мобилизации запасных жиров и повышение скорости окисления их в печени /*Perchy* и др., 1957/.

Хотя *Strickland* /1963/ и не нашел различий в дыхании и окислительном фосфорилировании /отношение АДФ/А в митохондриях печени интактных и адреналэктомированных животных, однако, в

Таблица 4

Влияние адреналэктомии на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени белых крыс

№ опытов		Поглощение кислорода в мкА на I мг азота митохондрий в час		Поглощение фосфора на I мг азота митохондрий в час		P:O	
I	2	I	2	I	2	I	2
31	1	7,53	7,91	22,20	20,11	2,97	2,54
52	2	10,01	8,08	36,04	25,16	3,60	3,11
53	3	10,38	13,82	35,26	37,75	3,40	2,73
60	4	9,46	13,74	28,87	33,04	3,50	2,41
61	5	11,16	13,81	37,62	37,49	3,24	2,71
62	6	12,34	15,73	37,10	43,27	3,00	2,75
67	7	13,02	12,18	41,98	38,88	3,22	3,19
69	-	7,30	-	27,89	-	3,80	-
70	-	9,43	-	35,55	-	3,76	-
71	-	8,12	-	31,50	-	3,87	-
M±m		9,87± ±0,61	12,15± ±1,14	33,40± ±1,82	33,67± ±3,07	3,39± ±0,11	2,77± ±0,10
Соотношение в процентах		100	123	-	-	100	81
P		-	< 0,05	-	-	-	< 0,001

1 - группа интактных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 - группа адреналэктомизированных животных, которым вводился физиологический раствор.

этих же экспериментах отмечалось снижение активности АТФ-азы /2.7.1.1/, а при пересчете на одну клетку фосфорилирующая активность митохондрий адреналэктомированных животных была ниже таковой интактных.

Противоположные данные были получены при окислении глюкозы, сукцината и пирувата в лактирующей молочной железе белых крыс после удаления у них надпочечников /*Кеселовант, Вакву*, 1964/. Однако данные этих экспериментов имеют меньшее значение для оценки наших результатов, в связи с тем, что эти опыты проводились на самках, и объектом исследования были не митохондрии печени, а ткань молочной железы.

Таким образом, согласно нашим данным, адреналэктомия сопровождается увеличением дыхания и уменьшением окислительного фосфорилирования в митохондриях печени.

Нарушение окислительного фосфорилирования, вызванное экстракцией надпочечников, почти полностью устраняется после однократного введения глутаминовой кислоты этим животным.

В таблице 5 показано, что эта аминокислота, не оказывая влияния на дыхание /контроль - 12,15, опыт - 12,76 мкА кислорода/, увеличивает поглощение неорганического фосфата с 33,67 до 42,03 мкА /24%/ митохондриями печени адреналэктомированных крыс по сравнению с митохондриями печени животных, которым вводился физиологический раствор. Одновременно с этим повышается коэффициент Р:О с 2,77 до 3,29 /на 19%/, почти достигая значений нормы.

В условиях гипоксии /таблица 6/ введение глутаминовой кислоты стимулирует дыхание в митохондриях печени адреналэктомированных животных на 10%. Наряду с этим увеличивается этерификация

Таблица 5

Влияние введения глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени адrenaлэктомированных животных в нормальных условиях

№ опытов		Поглощение кислорода в мкА на I мг азота митохондрий в час		Поглощение фосфора на I мг азота митохондрий в час/в мкА/		P:O	
I	2	I	2	I	2	I	2
I	Ia	7,9I	II,08	20,II	33,52	2,54	3,02
2	2a	8,08	II,I3	25,I6	42,42	3,II	3,8I
3	3a	I3,82	I2,29	37,75	39,47	2,73	3,2I
4	4a	I3,7I	I2,97	33,04	4I,77	2,4I	3,22
5	5a	I3,8I	I4,02	37,49	48,5I	2,7I	3,46
6	6a	I5,73	I3,50	43,27	40,26	2,75	2,98
7	7a	I2,I8	I4,36	38,88	48,3I	3,I9	3,36
M-m		I2,I5± ±I,I4	I2,76± ±0,45	33,67± ±3,07	42,03± ±I,9I	2,77± ±0,I0	3,29± ±0,I0
Соотношение в процентах		-	-	I00	I25	I00	II9
P		-	-	-	<0,05	-	<0,0I

I - группа адrenaлэктомированных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 - группа адrenaлэктомированных животных, которым вводилась глутаминовая кислота.

неорганического фосфата на I4%. Различий в коэффициенте P:O в контрольной и опытной группах животных с удаленными надпочечниками не отмечается. Последнее, вероятно, можно объяснить тем, что в условиях гипоксии дыхание в митохондриях печени переключается на фосфорилирующий путь /Скулачев, I962/.

Таблица 6

Влияние введения глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени адреналэктомированных животных в условиях гипоксии

№ опытов		Поглощение кислорода в мкА на 1 мг азота митохондрий в час		Поглощение фосфора на 1 мг азота митохондрий в час/в мкА/		P:O	
I	2	I	2	I	2	I	2
I	Ia	13,04	20,72	38,46	67,76	2,94	3,27
2	2a	15,96	16,66	54,80	56,56	3,43	3,39
3	3a	18,78	18,64	58,19	59,40	3,09	3,18
4	4a	16,21	19,30	51,35	59,83	3,16	3,10
5	5a	15,76	15,39	54,67	53,20	3,59	3,45
6	6a	15,08	15,89	55,24	58,24	3,66	3,66
7	7a	16,20	18,28	52,12	53,66	3,21	2,94
8	-	15,38	-	38,80	-	2,52	-
9	-	17,51	-	58,03	-	3,31	-
10	-	16,70	-	42,60	-	2,55	-
11	-	16,43	-	55,80	-	3,38	-
M _{нм}		16,09± ±0,40	17,34± ±0,73	50,92± ±2,20	58,23± ±1,34	3,16± ±0,11	3,23± ±0,28
Соотношение в процентах		100	110	100	114	100	103
P		-	< 0,05	-	< 0,05	-	-

1 - группа адреналэктомированных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 - группа адреналэктомированных животных, которым вводилась глутаминовая кислота.

Сравнение результатов экспериментов по влиянию введения глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий печени неоперированных животных с адреналэктомированными показывает, что данная аминокислота в условиях гипоксии у адреналэктомированных крыс в значительно меньшей степени стимулирует поглощение кислорода в этих гранулах. У неоперированных животных эта величина составляет 19,6%, а у адреналэктомированных - 10% /таблица 7/.

Таблица 7

Влияние введения глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени интактных и адреналэктомированных животных в условиях гипоксии

Экспериментальные процедуры	Количество животных	мкА. кислорода на 1мг азота митохондрий в час	мкА фосфора на 1 мг азота митохондрий в час	P:O
Интактные животные, вводился физиологический раствор	10	10,12 $\pm$ $\pm$ 0,45	32,59 $\pm$ $\pm$ 2,16	3,22 $\pm$ $\pm$ 0,12
Интактные животные, вводилась глутаминовая кислота	11	12,11 $\pm$ $\pm$ 0,43	36,60 $\pm$ $\pm$ 1,88	3,02 $\pm$ $\pm$ 0,09
Соотношение в процентах	-	+19,6 P < 0,05	+12 P > 0,1	-6 -
Адреналэктомированные животные, вводился физиологический раствор	7	16,09 $\pm$ $\pm$ 0,40	50,92 $\pm$ $\pm$ 2,20	3,16 $\pm$ $\pm$ 0,11
Адреналэктомированные животные, вводилась глутаминовая кислота	7	17,84 $\pm$ $\pm$ 0,73	58,23 $\pm$ $\pm$ 1,84	3,28 $\pm$ $\pm$ 0,28
Соотношение в процентах		+10 P < 0,05	+14 P < 0,05	+3,7 -

Исходя из этого, было сделано предположение о том, что одним из возможных путей стимулирующего влияния глутаминовой кислоты на аэробные окислительные процессы в митохондриях опосредован через гормоны надпочечников. С целью проверки этого предположения в последующих сериях опытов изучалось влияние подкожного введения кортизонацетата и адреналина на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени адреналэктомизированных животных в условиях гипоксии.

ГЛАВА IV. ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ КОРТИЗОНАЦЕТАТА И АДРЕНАЛИНА НА ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ АДРЕНАЛЭКТОМИРОВАННЫХ ЖИ- ВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ

I. Эксперименты с введением кортизонацетата адреналэктомированным животным

До настоящего времени нет четкого представления о влиянии кортикостероидных гормонов, в частности, кортизонацетата, на аэробные окислительные процессы в митохондриях. Литературные сведения о влиянии кортикостероидных гормонов на поглощение кислорода митохондриями противоречивы: имеются указания о стимулировании /Васильева и др., 1965/, ингибировании /Lowy и др., 1957; Fallager, 1960/ процессов тканевого дыхания и об отсутствии какого-либо влияния на них /Liljeroot, Hall, 1966/. Задачей этой серии опытов являлось изучение влияния кортизонацетата на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени адреналэктомированных животных в условиях гипоксии.

Опыты были проведены на 12 крысах-самцах. Животных брали в опыт через 3 дня после адреналэктомии. Кортизонацетат вводился подкожно в дозе 20 мг на 1 кг веса животного /Юдаев, 1963/ один раз в сутки. В день опыта через 1,5 часа после инъекции кортизонацетата животных помещали в барокамеру на 2 часа /"высота" 7500-8000 метров/. Затем крыс декапитировали, выделяли из печени митохондрии и изучали в них дыхание и окислительное фосфорилирование.

Кортизонацетат в этих условиях опыта стимулирует дыхание в митохондриях печени на 44%. Поглощение кислорода в контрольной группе составляет в среднем 16,09 мкА, а в подопытной - 23,24 мкА.

Таблица 8

Влияние введения кортизонацетата на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени адреналэктомированных животных в условиях гипоксии

№ опытов		Поглощение кислорода в мкА на I мг азота митохондрий в час		Поглощение фосфора на I мг азота митохондрий в час в мкА		P:O	
I	Ia	13,04	17,75	38,46	53,62	2,94	3,02
2	2a	15,96	22,68	54,80	69,35	3,43	3,05
3	3a	18,78	22,15	58,19	74,58	3,09	3,36
4	4a	16,21	24,01	51,35	73,79	3,16	3,05
5	5a	15,76	27,83	54,67	72,40	3,59	2,60
6	6a	15,08	25,04	55,24	71,30	3,66	2,84
7	-	16,20	-	52,12	-	3,21	-
8	-	15,38	-	38,80	-	2,52	-
9	-	17,71	-	58,03	-	3,32	-
10	-	16,70	-	42,60	-	2,55	-
11	-	16,43	-	55,80	-	3,39	-
M±m		16,09± ±0,10	23,24± ±1,37	50,92± ±2,20	69,10± ±3,17	3,16± ±0,11	2,98± ±0,31
Соотношение в процентах		100	144	100	135	100	94
P		-	<0,001	-	<0,001	-	>0,3

1 - группа адреналэктомированных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 - группа адреналэктомированных животных, которым вводился кортизонацетат.

Повышается также поглощение неорганического фосфата из инкубационной среды на 35% /50,92 мкА в контроле и 69,10 мкА в опыте/.

Коэффициент Р:О в контроле и опыте был одинаков /таблица 8/.

Полученные в этой серии опытов результаты согласуются с данными литературы, свидетельствующими о том, что введение адреналэктомизированным животным кортизона в течение пяти дней повышает скорость включения радиоактивного фосфора в АТФ в печени и мышцах. Такой эффект кортизона обусловлен усилением аэробных окислительных процессов в организме /*Derache* и др., 1957/. В этом отношении представляют интерес результаты, полученные Петуховым /1960/ при изучении влияния гипоксии и АКТГ на состояние углеводных резервов тканей белых крыс. Этим автором было установлено, что предварительные инъекции АКТГ животным до помещения их в барокамеру /"высота" 10500 метров/ предотвращают снижение гликогена и способствуют утилизации молочной кислоты тканями.

С другой стороны, *Kowalewsky* /1961/ отметил снижение способности к поглощению кислорода тканью печени животных, которым в течение 14 дней вводился кортизон. Такой эффект кортизона наблюдался в том случае, если в качестве субстрата дыхания применялась янтарная кислота. В последующей работе указанным автором было показано, что наряду со снижением аэробных окислительных процессов в ткани печени отмечается также и уменьшение активности сукцинатдегидрогеназы /1.3.99.1/, в то время как активность цитохромоксидазы /1.9.3.1/ в этих условиях эксперимента не изменяется /*Kowalewsky*, 1962/. В отличие от предыдущего автора, *Gallager* /1960/ в опытах *in vitro* не нашел изменений в активности сукцинатдегидрогеназы /1.3.99.1/ при добавке гидрокор-

тизона в инкубационную среду. В этих же опытах отмечено значительное снижение активности дегидрогеназ. Ингибирующее влияние гидрокортизона на эти ферменты снимается добавками пиридиннуклеотидов, никотинамида или глутатиона. Несколько иные результаты получены Liljevoet и Hall /1965/, которыми установлено, что кортизон в опытах *in vitro* не влияет на дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий, выделенных из печени интактных животных, но этот же гормон способствует нормализации нарушенного окислительного фосфорилирования в митохондриях печени адреналэктомированных животных. Стимулирующее влияние ионов магния на поглощение кислорода митохондриями печени в значительной степени снимается после добавки кортизона в инкубационную среду / Lowy и др., 1957/.

Для оценки наших данных, результаты последних работ имеют меньшее значение, поскольку эти эксперименты проводились *in vitro*.

Наряду со стимуляцией выработки кортикостероидных гормонов глутаминовая кислота способна повышать концентрацию адреналина в организме. Адреналин же в свою очередь принимает непосредственное участие в регуляции окислительных процессов в тканях. Поэтому представляет интерес изучение влияния адреналина на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени адреналэктомированных животных в условиях гипоксии.

2. Эксперименты с введением адреналина адреналэктомизированным животным

Опыты были проведены на 12 белых крысах-самцах весом от 180 до 240 г. Через трое суток после адреналэктомии подопытной крысе вводили адреналин из расчета 1 мг на 1 кг веса /Западный и др., 1962/, контрольной - соответствующий объем физиологического раствора и сразу же помещали обоих животных в барокамеру на 2 часа. Затем забивали их, выделяли митохондрии из печени и определяли в них дыхание и окислительное фосфорилирование.

Анализ результатов, представленных в таблице 9, показывает, что адреналин на 11% повышает потребление кислорода митохондриями, выделенными из печени адреналэктомизированных животных, находившихся 2 часа в условиях пониженного парциального давления кислорода, по сравнению с дыханием митохондрий печени оперированных животных, которым вводился физиологический раствор. В контрольной группе крыс дыхание митохондрий печени составляет 21,56 мкА, а в подопытной - 24,14 мкА кислорода. Стимулирующее влияние адреналина на дыхание сопровождается усилением синтеза макроэнергетических фосфорных соединений в этих гранулах. Об этом свидетельствует увеличение поглощения неорганического фосфата из инкубационной среды на 14% /контрольная группа - 60,58 мкА, подопытная - 69,14 мкА фосфора/. В связи с одновременной стимуляцией как дыхания, так и окислительного фосфорилирования, отклонений в коэффициенте $P:O$ в этих опытах не отмечается /в контрольной группе он равен в среднем 2,80, в подопытной - 2,85/.

Таблица 9

Влияние подкожного введения адреналина на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени адреналэктомированных животных в условиях гипоксии

№ опытов		Поглощение кис-лорода в мКА на 1 мг азота митохондрий в час		Поглощение неорг. фосфора в мКА на 1 мг азота митохондрий в час		P:O	
I	2	I	2	I	2	I	2
1	1a	21,26	20,81	62,00	59,43	2,86	2,85
2	2a	21,66	25,34	70,78	68,46	3,26	2,70
3	3a	20,96	24,55	58,85	72,57	2,80	2,95
4	4a	21,40	25,70	56,28	82,08	2,62	3,19
5	5a	20,93	23,65	60,32	63,97	2,88	2,70
6	6a	22,83	24,84	55,25	68,38	2,42	2,75
M±m		21,56± ±0,28	24,14± ±0,72	60,58± ±0,79	69,14± ±3,16	2,80± ±0,07	2,85± ±0,12
Соотношение в процентах		100	111	100	114	-	-
P		-	<0,01	-	<0,05	-	-

1 - группа адреналэктомированных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 - группа адреналэктомированных животных, которым вводился адреналин.

Стимулирующее влияние адреналина на дыхание в условиях гипоксии было показано Euler /1930/. Если мышечную или нервную ткань поместить в условия с обычным содержанием кислорода, то добавка адреналина в разведении 10⁻¹¹ - 10⁻¹³ не оказывает влияния на дыхание, но если эти же ткани поместить в среду, содержащую 2-3% кислорода, то такие же дозы адреналина значительно по-

выпают потребление кислорода в мышце и в мозге. Подобный эффект адреналина наблюдается и в работающей скелетной мышце /Геницинский и др., 1930/, а также в сердечной мышце в восстановительный период после гипоксической остановки сердца /Окунева и др., 1964/. *Cori и Buchwald*/1931/ обратили внимание на то, что в анаэробных условиях адреналин увеличивает образование молочной кислоты в организме лягушки, в то время как в аэробных - лактат накапливается в меньшем количестве, причем последнее явление сопровождается одновременным увеличением поглощения кислорода. Авторы считают, что добавочное поглощение кислорода обусловлено окислением избытка молочной кислоты, образовавшейся после введения адреналина. В этом аспекте могут трактоваться и наши данные по увеличению поглощения кислорода после инъекции животным адреналина.

Многими исследованиями было установлено, что в опытах *in vitro* адреналин не влияет на дыхание в тканях /Шаттенштейн и Зыкова, 1935; Гелашвили, 1947; Туровский, 1964 и др./ и было сделано предположение о том, что биологической активностью в организме обладают продукты обмена адреналина. Более детально этот вопрос изучен и освещен в работах Утевского /1939, 1944, 1959, 1964 и др./.

Обнаруженное в приведенных выше экспериментах увеличение дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях печени адреналэктомизированных животных под влиянием адреналина в условиях гипоксии /таблица 9/ может служить косвенным подтверждением ранее высказанного предположения о том, что стимулирующее

Влияние глутаминовой кислоты на эти процессы в митохондриях, возможно, связано с аднергическим действием этого соединения.

Не менее важную роль в регуляции дыхания и окислительного фосфорилирования играет щитовидная железа. Многочисленными исследованиями /*Hoch* и др., 1954; *Tapley* и др., 1955, 1956; *Dickens*, *Salmony*, 1956; *Burtin* и др., 1956; *Lehringer*, 1957, 1957a; *Bronk*, 1958, 1963, 1963a; Рачо Русев Рачев, 1966; *Scott*, *Hunter* 1966 и др./ показано, что тиреоидные гормоны принимают непосредственное участие в регуляции окислительного фосфорилирования и функционального состояния митохондрий. Экспериментами Волкова /1966/ установлено стимулирующее влияние глутаминовой кислоты на функцию щитовидной железы в условиях гипоксии. Поэтому представляло интерес изучение влияния глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий печени и основной обмен у тиреоидэктомизированных крыс.

ГЛАВА V. ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ДЫХАНИЕ
И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В МИТОХОНДРИЯХ
ПЕЧЕНИ И ОСНОВНОЙ ОБМЕН У ТИРЕОИДЭКТОМИРОВАННЫХ
КРЫС В НОРМЕ И ПРИ ГИПОКСИИ

Опыты были проведены на молодых белых крысах-самцах весом от 110 до 160 г. Животных брали в опыт через 6-7 дней после тиреоидэктомии. Глутаминовую кислоту вводили однократно /1 мг на 1 г веса/. Влияние этого соединения на дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий, выделенных из печени, а также на основной обмен у крыс определялось как при нормальном содержании кислорода во вдыхаемом воздухе, так и в условиях гипоксии.

Основной обмен у крыс определялся утром после 12-16 часов голодания. Определение основного обмена производилось по поглощению кислорода в аппарате открытого типа, в котором определенный объём воздуха пропусклся с постоянной скоростью через камеру с животным. Выдыхаемый воздух анализировали в аппарате Холдена. Показатели основного обмена выражали в килокалориях /ккал/ на 100 г веса в сутки.

В таблице 10 представлены результаты опытов по влиянию тиреоидэктомии на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени. Как видно из результатов этой таблицы, поглощение кислорода митохондриями, выделенными из печени тиреоидэктомированных животных на 14% ниже такового у интактных животных /контроль - 20,83 мкА, тиреоидэктомия - 17,90 мкА/. Одновременно с этим у животных с удаленной щитовидной железой снижается интенсивность окислительного фосфорилирования в митохондриях печени, последнее является причиной

Таблица 10

Влияние тиреоидэктомии на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени крыс в нормальных условиях

№ опытов		Поглощение кислорода в мкА на 1 мг азота митохондрий в час		Поглощение неорганического фосфора в мкА на 1 мг азота митохондрий в час		Р:0	
1	2	1	2	1	2	1	2
1	1a	23,93	20,72	53,24	54,31	2,22	2,62
2	2a	18,89	16,60	56,22	46,50	2,97	2,80
3	3a	18,24	17,85	47,53	58,23	2,60	3,26
4	4a	18,19	16,22	43,15	38,47	2,37	2,37
5	5a	17,50	16,28	38,03	37,75	2,17	2,31
6	6a	20,52	19,75	55,40	43,86	2,70	2,22
7	7a	26,75	20,82	67,24	48,38	2,51	2,32
8	8a	21,91	16,84	65,07	45,79	2,96	2,71
9	9a	21,61	16,09	61,08	37,21	2,82	2,31
М±м		20,83± ±1,02	17,90± ±0,66	54,10± ±3,11	45,61± ±2,44	2,59± ±0,33	2,54± ±0,35
Соотношение в процентах		100	86	100	84	-	-
Р		-	<0,05	-	<0,05	-	-

1 - группа интактных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 - группа тиреоидэктомизированных животных, которым вводился физиологический раствор.

уменьшения поглощения неорганического фосфата с 54.10 до 45.61мкмг то-есть на 16% по сравнению с митохондриями, выделенными из печени контрольной группы животных. Различий в коэффициенте P:O у обеих групп крыс не отмечено /таблица 10/. Отмеченное выше снижение дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях печени тиреоидэктомированных крыс сопровождается уменьшением у них основного обмена на 23,4% /рис.4/.

Полученные результаты согласуются с данными *Ваккер* /1951/ и *Малай* /1957/, обнаруживших снижение активности ферментов дыхательной цепи у гипотиреоидных животных. В более поздних работах показано, что после тиреоидэктомии снижение основного обмена сопровождается уменьшением дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях печени /*Tata* и др., 1962/ с сукцинатом /*Вронк У*, *Вронк М*, 1962; *Вронк Т*, 1963, 1963а, 1963б/, β -оксибутиратом, пируватом и глутаматом /*Tata* и др., 1963/. В этих исследованиях так же, как и в проведенных нами опытах /таблица 10/, не было найдено изменений со стороны коэффициента P:O у гипотиреоидных животных по сравнению с интактными.

Следовательно, снижение основного обмена у животных с удаленной щитовидной железой сопровождается также уменьшением интенсивности аэробных окислительных процессов в митохондриях печени.

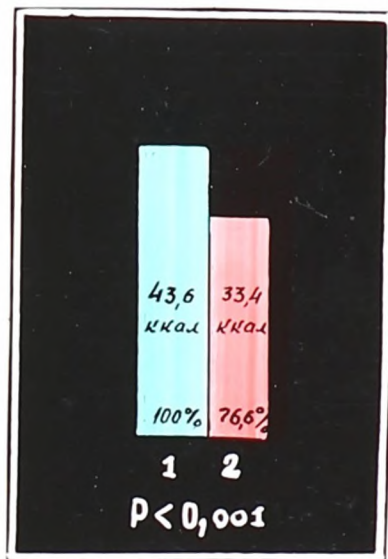


Рис.4. Влияние тиреоидэктомии на основной обмен у крыс /в ккал на 100 г веса в сутки/.

1. Группа интактных животных /78 крыс/.
2. Группа тиреоидэктомированных животных /48 крыс/.

На фоне такого стрессового состояния организма глутаминовая кислота оказывает выраженное стимулирующее влияние на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени. Инъекция этой аминокислоты тиреоидэктомизированным крысам повышает поглощение кислорода этими гранулами на 29% /таблица II/ по сравнению с таковым в митохондриях, выделенных из печени гипотиреоидных животных, которым вводился физиологический раствор. Важно отметить, что при этом значительно увеличивается синтез АТФ /на 35%/, о чем свидетельствует повышение поглощения неорганического фосфата с 45,6I до 6I,4I мкА.

Однако стимуляция аэробных окислительных процессов в митохондриях печени под влиянием глутаминовой кислоты не сопровождается усилением основного обмена у тиреоидэктомизированных животных. В таблице I2 приведены результаты этих опытов, которые свидетельствуют о том, что у контрольной и подопытной групп тиреоидэктомизированных крыс различий в основном обмене не отмечается. По-видимому, в отсутствие щитовидной железы утрачивается корреляция между основным обменом организма и интенсивностью дыхания митохондрий печени.

После тиреоидэктомии изменяется реакция организма на гипоксию. У животных, не подвергавшихся операции, в условиях гипоксии отмечается снижение основного обмена на 22,7%, тогда как у тиреоидэктомизированных - в этих же условиях основной обмен снижается всего лишь на 11% /рис.5/.

Иначе влияет гипоксия и на дыхание митохондрий печени тиреоидэктомизированных животных. Если дыхание митохондрий, выделенных из печени неоперированных животных, находившихся в состоянии ги-

Таблица II

Влияние введения глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени тиреоидэктомизированных животных в нормальных условиях

№ опытов		Поглощение кис-лорода в мкА на I мг азота митохондрий в час		Поглощение неорганического фосфора в мкА на I мг азота митохондрий в час		P:O	
I	2	I	2	I	2	I	2
Ia	Ira	20,72	25,88	54,3I	73,48	2,62	2,84
2a	2ra	I6,60	23,0I	46,50	54,3I	2,80	2,36
3a	3ra	I7,85	24,98	58,23	68,04	3,26	2,72
4a	4ra	I6,22	2I,93	38,47	59,65	2,37	2,72
5a	5ra	I6,28	20,I7	57,75	5I,56	2,3I	2,55
6a	-	I9,75	-	43,86	-	2,22	-
7a	-	20,82	-	48,38	-	2,32	-
8a	-	I6,84	-	45,79	-	2,8I	-
9a	-	I6,09	-	37,2I	-	2,3I	-
M±m		I7,90± ±0,66	23,I9± ±I,00	45,6I± ±2,44	6I,4I± ±4,I2	2,54± ±0,35	2,63± ±0,26
Соотношение в процентах		I00	I29	I00	I35	I00	I03
P		-	<0,00I	-	<0,0I	-	>0,5

I - группа тиреоидэктомизированных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 - группа тиреоидэктомизированных животных, которым вводилась глутаминовая кислота.

Таблица 12

Влияние введения глутаминовой кислоты на основной обмен тиреоидэктомизированных крыс в нормальных условиях /в ккал на 100 г веса в сутки/

№ опытов	Тиреоидэктомия, вводился физиологический раствор	№ опытов	Тиреоидэктомия, вводилась глутаминовая кислота
I	29,54	Ia	23,42
2	40,33	2a	41,06
3	32,14	3a	30,92
4	35,20	4a	36,18
5	28,49	5a	26,07
6	29,16	6a	29,63
7	34,24	7a	22,05
8	43,87	8a	32,76
9	22,93	9a	29,59
10	29,79	10a	34,71
$\overline{M \pm m}$	$32,56 \pm 1,90$		$30,64 \pm 1,97$
Соотношение в процентах	100		94,1
P	-		> 0,5

покси, не изменяется /рис.6/, то у тиреоидэктомизированных - в этих же условиях опыта оно повышается и достигает уровня интактных животных /таблица 13/. У оперированной группы крыс дыхание митохондрий печени составляет 22,96 мкА, у контрольной - 22,06 мкА кислорода.

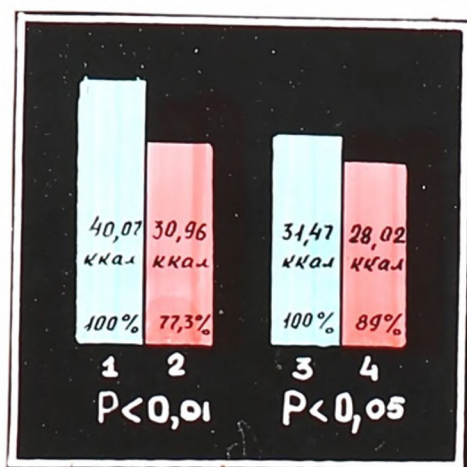


Рис.5. Влияние гипоксии на основной обмен у intactных и тиреоидэктомизированных крыс /в ккал на 100 г веса в сутки/:

- 1/ у неоперированных крыс до гипоксии;
- 2/ у крыс группы 1 после 2-часового пребывания в барокамере;
- 3/ у тиреоидэктомизированных крыс до гипоксии;
- 4/ у крыс группы 3 после 2-часового пребывания в барокамере.

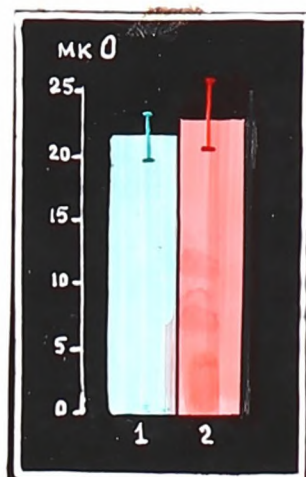


Рис.6. Поглощение кислорода митохондриями, выделенными из печени неоперированных животных, находящихся в нормальных условиях /1/ и в состоянии гипоксии /2/.

Предварительные инъекции глутаминовой кислоты тиреоидэктомизированным крысам за полтора часа перед помещением их в барокамеру стимулируют дыхание в митохондриях печени на 13% по сравнению с поглощением кислорода такими же гранулами, выделенными из печени крыс, которым вводился физиологический раствор /таблица 14/. Вместе с усилением дыхания увеличивается и синтез АТФ, что подтверждается результатами экспериментов по определению окислительного фосфорилирования. Поглощение неорганического фосфора у тиреоидэктомизированных животных контрольной группы составляет 59,76, а в подопыт-

Таблица 13

Влияние гипоксии на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени тиреоидэктомированных крыс

№ опытов		Поглощение кислорода в мкА на I мг азота митохондрий в час		Поглощение неорганического фосфора в мкА на I мг азота митохондрий в час		P:O	
I	2	I	2	I	2	I	2
1	1a	19,31	23,57	59,74	59,60	3,09	2,52
2	2a	24,85	22,10	64,88	51,78	2,61	2,34
3	3a	21,27	21,82	48,30	56,98	2,27	2,61
4	4a	22,57	22,64	62,47	61,04	2,76	2,69
5	5a	19,19	24,40	43,00	67,70	2,24	2,77
6	6a	20,80	24,31	56,96	73,19	2,73	3,01
7	7a	26,49	21,89	51,97	48,05	2,00	2,19
M±m		22,06± ±1,04	22,96± ±1,36	55,33± ±3,01	59,76± ±3,28	2,53± ±0,14	2,59± ±0,10
Соотношение в процентах		100	104	100	108	100	102
P		-	> 0,5	-	> 0,5	-	-

1 - группа интактных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 - группа тиреоидэктомированных животных, которым вводился физиологический раствор.

ной - 69,97 мкА. Различий в коэффициенте P:O в этих опытах не отмечается / таблица 14/. При этом отсутствуют какие-либо сдвиги в показателях основного

Таблица I4

Влияние введения глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени тиреоидэктомизированных животных в условиях гипоксии

№ опытов		Поглощение кислорода в мкА на I мг азота митохондрий в час		Поглощение неорганического фосфора в мкА на I мг азота митохондрий в час		P:O	
I	2	I	2	I	2	I	2
Ia	Iг	23,57	24,63	59,60	71,97	2,52	2,92
2a	2г	22,10	25,12	51,78	68,35	2,54	2,72
3a	3г	21,82	23,33	56,98	58,88	2,61	2,52
4a	4г	22,64	27,75	61,04	71,55	2,69	2,57
5a	5г	24,40	26,62	67,70	80,09	2,77	3,00
6a	6г	24,31	25,88	73,19	61,72	3,01	2,38
7a	7г	21,89	27,41	48,05	77,29	2,19	2,81
M _{нм}		22,96± ±1,36	25,85± ±0,60	59,76± ±3,28	69,97± ±2,90	2,59± ±0,10	2,66± ±0,08
Соотношение в процентах		100	113	100	117	100	102
P		-	< 0,001	-	< 0,05	-	> 0,5

I - группа тиреоидэктомизированных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 - группа тиреоидэктомизированных животных, которым вводилась глутаминовая кислота.

обмена у тиреоидэктомизированных животных, находившихся в состоянии гипоксии после введения им глутаминовой кислоты /рис.7/.

У контрольной группы животных основной обмен равен 28,02 ккал,

а у подопытной - 28,79 ккал.

Резюмируя вышеизложенное, можно отметить, что глутаминовая кислота стимулирует дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени тиреоидэктомизированных животных как в норме, так и в состоянии гипоксии, не влияя при этом на показатели основного обмена у этих крыс. В свете изложенного

представляется правомерным предположение о том, что гормональный фон имеет существенное значение в определении реакции организма на введение глутаминовой кислоты при экстремальных воздействиях.

Способность глутаминовой кислоты повышать выработку кортико-стероидных гормонов и адреналина, а также стимулировать аэробные окислительные процессы в организме является важным фактором в адаптации животных к условиям гипоксии. В связи с тем, что гипоксическое состояние является чрезвычайным раздражителем, следовало ожидать, что глутаминовая кислота будет оказывать свое влияние и при воздействии других стрессовых факторов. В этом аспекте изучение влияния глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях регенерирующей печени представляет несомненный интерес. Такая экспериментальная модель была выбрана на основе представлений о том, что

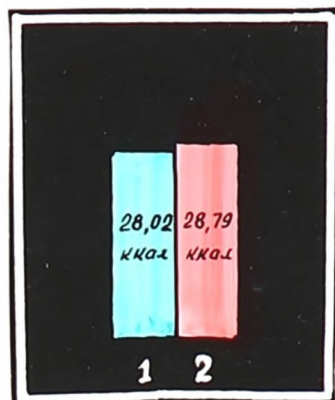


Рис.7. Основной обмен у тиреоидэктомизированных крыс /в ккал на 100 г веса/ в условиях гипоксии после введения физиологического раствора /1/ и глутаминовой кислоты /2/.

печень принимает участие во многих видах обмена веществ, в том числе и в регуляции уровня гормонов в организме /Фишер, 1961/.

Кроме того, клиническими и экспериментальными исследованиями было установлено, что глутаминовая кислота оказывает благоприятное воздействие на функцию печени при печеночной коме /*Chaikin* и др., 1956; *Eisman* и др., 1956; Сунь-Цзун-и, Ли-Цзун-Мин, 1958/, а также при токсических поражениях этого органа /Брагинская, Геллер, 1965/.

Изложенное свидетельствует о том, что решение поставленной задачи представляет не только теоретический, но и клинический интерес.

ГЛАВА VI. ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В МИТОХОНДРИЯХ РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ

Опыты были проведены на 33 белых крысах-самцах весом от 180 до 240 г. Операция гепатэктомии производилась по методу *Higgins* и *Anderson* /1931/ с удалением 65-70% печени. В день операции и в последующие дни один раз в сутки подопытной группе животных вводилась глутаминовая кислота из расчета 1 мг на 1 г веса животного, контрольной группе оперированных животных - соответствующий объем физиологического раствора. Через трое суток после операции одновременно у контрольной и подопытной групп крыс исследовалось дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени. Такой срок для исследования был выбран на том основании, что максимум митозов печени, согласно многочисленным данным литературы, совпадает со 2-4 сутками после частичной гепатэктомии /*Brues* и др., 1936; *Kochuli*, 1956; *Fisher*, 1959; Сидорова и Рябина, 1960 и др./ . В этот же период времени определяется максимальная синтетическая активность в регенерирующей печени /Новикова, 1956/. Источником энергии для синтетических процессов и деления клеток являются в основном аэробные окислительные процессы /*Swann*, 1953/. Согласно точки зрения Аллова /1964/ и *Bullough*, *Laurence* /1956/ метаболиты цикла трикарбоновых кислот и другие легко-окисляющиеся соединения усиливают митотическую активность клеток.

Целью этой серии опытов являлось изучение влияния частичной гепатэктомии, а также выявление воздействия глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях регенерирующей печени.

В таблице 15 представлены результаты опытов по влиянию регенерации на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени. Анализ этих результатов показывает, что поглощение кислорода митохондриями регенерирующей печени на 24% выше, чем в контрольной группе животных /опыт - 12,32 мкА, а контроль - 9,87 мкА кислорода/. Подобные результаты были получены *Schmida* и *Baizer* /1957/ и Холлес /1958/. Исследованиями этих авторов было показано, что дыхание срезов печени увеличивается на вторые сутки после частичной гепатэктомии, достигая максимума на 3-4 сутки. *Clerici*, *Guidetti* и *Rizzano* /1960/, подтвердив эти наблюдения, показали, что дыхание остается повышенным в течение последующих 3-4 дней. Некоторым доказательством повышения интенсивности окислительных процессов во время регенерации является обнаруженное гистохимически уменьшение гликогена в печени в первые три дня после частичной гепатэктомии, то-есть в тот период времени, когда наблюдается интенсивное деление клеток /*Уокоуата* и др., 1953/.

Однако имеют место и другие точки зрения. Так, Шень Вань-Май /1963/ не нашел увеличения дыхания в процессе регенерации печени через 72 часа после частичной гепатэктомии. По-видимому, причина противоречий в результатах, полученных названным автором и ранее приведенных, заключается в различных условиях проведения экспериментов.

Таблица 15

Влияние регенерации на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени белых крыс

№№ опытов		Поглощение кислорода в мкА на 1 мг азота митохондрий в час		Поглощение фосфора в мкА на 1 мг азота митохондрий в час		P:O	
I	2	I	2	I	2	I	2
31	1	7,53	11,46	22,20	34,31	2,97	2,99
52	2	10,01	10,98	36,04	35,39	3,60	3,10
53	3	10,38	12,88	35,26	42,07	3,40	3,26
60	4	9,46	14,12	28,87	47,31	3,05	3,35
61	5	11,16	13,82	37,62	38,96	3,24	2,54
62	6	12,34	14,72	37,10	41,83	3,00	2,84
67	7	13,02	15,14	41,98	43,09	3,22	2,84
69	8	7,30	11,85	27,89	28,41	3,80	2,39
70	9	9,43	10,35	33,55	24,50	3,76	2,36
71	10	8,12	10,91	31,50	27,01	3,87	2,47
-	11	-	9,87	-	26,04	-	2,64
M±m		9,87± ±0,61	12,32± ±0,55	33,40± ±1,82	34,77± ±2,15	3,39± ±0,11	2,80± ±0,10
Соотношение в процентах		100	124	100	104	100	82
P		-	< 0,01	-	> 0,5	-	< 0,001

1 - группа интактных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 - группа гепатэктомированных животных, которым вводился физиологический раствор.

Однако увеличение дыхания в митохондриях регенерирующей печени не сопровождается повышением поглощения неорганического фосфата из инкубационной среды. В контрольной группе животных эта величина составляет 33,40 мкА, а в подоштной - 34,77 мкА фосфора. Следовательно, в митохондриях регенерирующей печени происходит разобщение дыхания с окислительным фосфорилированием, что проявляется в снижении коэффициента $P:O$ с 3,39 до 2,30, то-есть на 19% /таблица 15/. Полученные в этой серии опытов результаты находятся в соответствии с данными *Clerici* /1960/, показавшего снижение коэффициента $P:O$ в гомогенатах регенерирующей печени с сукцинатом и α -кетоглутаратом на 31% и 33% соответственно. Приведенные результаты согласуются также и с опытами *Morgan* и *Leon* /1963/, которые обнаружили снижение активности аденозинтрифосфатазы /3.6.1.4/ в регенерирующей печени в течение 23 дней после частичной гепатэктомии.

Следовательно, увеличение дыхания в процессе регенерации печени можно расценивать как результат разобщения дыхания с окислительным фосфорилированием /Слайтер, Хьюлсман, 1962/, а возможно также и за счет повышения содержания НАД в митохондриях /Орешникова и др., 1965/.

В отличие от наших наблюдений, Палладина и Гудина /1958/ показали, что на четвертые сутки в гомогенатах регенерирующей печени коэффициент $P:O$ выше, чем в контроле. Однако нельзя не отметить некоторых методических погрешностей, которые имели место в экспериментах этих авторов. В качестве субстрата дыхания ими был использован сукцинат, который, как известно, окисляется с коэффициентом $P:O$, равным примерно 2,0 /Хореккер, Хайят, 1961; Северин,

1962 и др.%. В опытах Палладиной и Гудиной этот показатель не превышает 0,53. Кроме того, следует также подчеркнуть, что в этих экспериментах при изучении окислительного фосфорилирования в инкубационную среду не добавлялась гексокиназа/2.7.1.1 в отсутствие которой вообще нельзя судить о характере этого процесса /Северин, 1960/.

Несомненно, что в регенерирующей печени имеются значительные сдвиги в метаболизме белков, которые должны найти свое проявление в изменении содержания азота митохондрий. На рис.8 представлены результаты

опытов по содержанию азота митохондрий в нормальной и регенерирующей печени. В процессе регенерации происходит снижение азота в митохондриях печени на 29% по сравнению с митохондриями, выделенными из печени интактных животных. Подобные результаты были получены и другими авторами /Орешникова и др., 1965/.

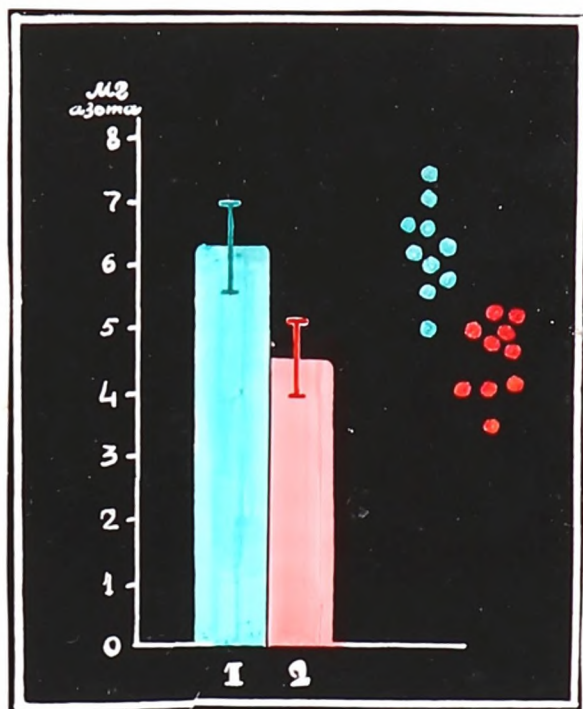


Рис.8. Содержание азота в митохондриях /в мг на 1 г ткани/ в нормальной /1 и 0/ и регенерирующей /2 и 0/ печени.

Снижение азота митохондрий в процессе регенерации, вероятно, связано с увеличением содержания в печени воды и липоидов /*Giverti и Bianchini*, 1954/, но не исключено и уменьшение общего количества митохондрий в первые дни после операции /Линдберг, Эрнстер, 1957/.

Таким образом, на основании изложенного можно прийти к заключению о том, что через 72 часа после удаления 65-70% печени отмечается разобщение дыхания с окислительным фосфорилированием и, как следствие этого, - повышение дыхания в митохондриях печени.

На фоне такого стрессового состояния как частичная гепатэктомия введение глутаминовой кислоты оказывает значительное влияние на аэробные окислительные процессы в митохондриях печени. В таблице 16 показано, что глутаминовая кислота стимулирует поглощение кислорода в митохондриях регенерирующей печени на 19% /контроль - 12,32 мкА, опыт - 14,98 мкА/ по сравнению с таковым у гепатэктомизированных животных, но получавших физиологический раствор. В литературе имеется мало данных по влиянию глутаминовой кислоты на дыхание в регенерирующей печени. Нам встретилась лишь работа Палладиной и Гудиной /1960/, результаты которой свидетельствуют о том, что эта аминокислота повышает дыхание в гомогенатах регенерирующей печени.

Наряду с повышением дыхания в наших опытах наблюдается и стимуляция процессов окислительного фосфорилирования. Это подтверждается увеличением поглощения неорганического фосфата из инкубационной среды на 21% /в контрольной группе эта вели-

Таблица 16

Влияние введения глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях регенерирующей печени

№ опытов		Поглощение кисло- рода в мкА на 1 мг азота митохондрий в час		Поглощение фосфо- ра в мкА на 1 мг азота митохондрий в час		P:O	
I	2	I	2	I	2	I	2
1	1a	11,46	14,74	34,31	40,32	2,99	2,73
2	2a	10,98	13,30	33,95	42,16	3,10	3,16
3	3a	12,88	13,33	42,07	37,81	3,26	2,90
4	4a	14,12	17,95	47,31	55,37	3,35	3,08
5	5a	13,32	16,23	33,96	44,76	2,54	2,75
6	6a	14,72	16,39	41,83	46,35	2,84	2,82
7	7a	15,14	17,58	43,09	46,72	2,84	2,62
8	8a	11,85	14,82	28,41	49,09	2,39	3,30
9	9a	10,35	11,53	24,50	30,09	2,36	2,60
10	10a	10,91	13,08	27,01	30,14	2,47	2,30
11	11a	9,87	13,09	26,04	44,39	2,64	3,38
	12a	-	14,98	-	41,03	-	2,73
M±m		12,32± ±0,55	14,75± ±0,57	34,77± ±2,15	42,34± ±2,10	2,80± ±0,10	2,86± ±0,09
Соотношение в процентах		100	119	100	121	100	-
P		-	<0,01	-	<0,05	-	-

1 - группа гепатэктомированных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 - группа гепатэктомированных животных, которым вводилась глутаминовая кислота.

чина равна 34,77 мкА, в подопытной - 42,34 мкА фосфора/, а также отсутствием изменений со стороны коэффициента P:O и аденозинтрифосфатной активности /3.6.1.4/. В контрольной группе активность этого фермента составляет 5,96 мкА, а в подопытной - 6,40 мкА фосфора /таблица 17/.

Таблица 17

Влияние введения глутаминовой кислоты на аденозинтрифосфатную активность /3.6.1.4/ в митохондриях регенерирующей печени в мкА фосфора на 1 мг азота митохондрий

№ опытов		Гепатэктомизированные животные, вводился физиологический раствор	Гепатэктомизированные животные, вводилась глутаминовая кислота
1	2	1	2
1	1a	5,20	5,20
2	2a	6,22	6,44
3	3a	7,32	8,26
4	4a	6,59	6,74
5	5a	4,50	5,38
M±m		5,96±0,50	6,40±0,55
Соотношение в процентах		100	107
P		-	>0,5

При аэробном окислении различных субстратов образуется основная масса макроэргических соединений, необходимых для осуществления синтетических процессов в организме. Зависимость

между дыханием и окислительным фосфорилированием и интенсивностью синтеза при регенерации установлена рядом исследователей. Более детально связь между энергетическим обменом и процессами регенерации освещена в работах Алова /1964/, Бресслера /1964/, Алова и Брауде /1966/.

По мнению *Greenova* и др. /1954/, об интенсивности синтеза белка в регенерирующей печени можно судить на основании активности глутамат: щавелевоуксусной - аминотрансферазы /2.6.1/ и дегидрогеназы глутаминовой кислоты /1.4.1.2/. В работе этих авторов выявлена прямая зависимость между усилением активности указанных ферментов и весом регенерирующей печени. В этой связи интерес представляет работа Палладиной и Гудиной /1960/, в которой установлено, что глутаминовая кислота стимулирует общую дегидрогеназную активность в регенерирующей печени, а следовательно, и должна создавать благоприятные условия для осуществления синтетических процессов в ней. Однако в исследованиях Каминского /1966/ глутамат натрия, вводимый в дозе 1 мг на 1 г веса животного один раз в сутки, не оказывает влияния на содержание ДНК, РНК и белкового азота ни через 24 часа, ни через трое суток после частичной гепатэктомии. В своих экспериментах мы также не нашли изменений в содержании азота митохондрий в регенерирующей печени под влиянием глутаминовой кислоты. В контрольной и подопытной группах крыс, с частично резецированной печенью, количество азота митохондрий на 1 г веса сырого органа составляет в среднем по 4,5 мг азота /рис.9/.

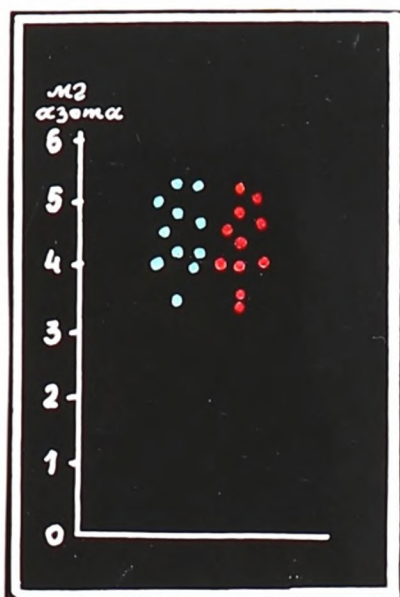


Рис. 9. Содержание азота митохондрий в мг на 1 г ткани регенерирующей печени после введения физиологического раствора /0/ и глутаминовой кислоты /0/.

По мнению Каминского /1966/, в состоянии стресса, каковым является частичная гепатэктомия, повлиять на восстановительные процессы в печени в ранние сроки регенерации воздействиями извне трудно, поскольку для быстрой ликвидации последствий к поврежденному органу в этот период доставляются в достаточном количестве строительные и энергетические материалы из эндогенных ресурсов.

Полученные нами результаты свидетельствуют о стимулирующем влиянии глутаминовой кисло-

ты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях регенерирующей печени и позволяют сделать вывод о том, что введение глутаминовой кислоты сопровождается усилением выработки макроэргических фосфорных соединений типа АТФ, которые, несомненно, способствуют улучшению метаболизма в клетках регенерирующей печени. В этом аспекте назначение глутаминовой кислоты больным при токсических и других видах повреждений печени оправдано.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами результаты по изучению влияния глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени показывают, что глутаминовая кислота, введенная в организм интактного животного, не оказывает влияния на аэробный метаболизм в клетках печени. Результаты этих экспериментов совпадают с данными Генкина и Удинцева /1958/, показавших, что в таких же условиях опыта эта аминокислота не стимулирует поглощение кислорода организмом подопытных животных.

Действие глутаминовой кислоты проявляется лишь в том случае, когда организм находится в состоянии напряжения, вызванного воздействием таких стрессовых факторов как гипоксия и оперативных вмешательств - адреналэктомии, тиреоидэктомии и частичной гепатэктомии. Так, глутаминовая кислота повышает потребление кислорода митохондриями, выделенными из печени животных, находившихся в состоянии гипоксии, на 19,6%. Такой эффект этой аминокислоты не сопровождается разобщением дыхания с окислительным фосфорилированием. Это свидетельствует о том, что под влиянием глутаминовой кислоты увеличивается синтез макроэнергетических фосфатных соединений типа АТФ, столь необходимых для нормализации нарушенного метаболизма в печени в состоянии гипоксии.

Подтверждением изложенного служат эксперименты, которыми установлено, что глутаминовая кислота в таких же условиях опыта

стимулирует поглощение кислорода подопытными животными /Генкин и Удинцев, 1958/, повышает количество гликогена и макроэргических соединений в печени и в мышцах /Захарова, 1962/; Добринская, 1962; Гефтер и др., 1961, 1962, 1966/, а также снижает уровень недоокисленных продуктов обмена и способствует более экономному расходованию энергетических ресурсов организма /Гефтер и др., 1961/.

Стимулирующее влияние глутаминовой кислоты на дыхание в митохондриях в связи с её широким участием в различных видах обмена веществ осуществляется, по-видимому, несколькими путями. Увеличение поглощения кислорода митохондриями печени имеет тесную связь с процессами переаминирования этой аминокислоты /Kasam Kubs, 1963; Balazs, 1965/. По мнению Михлина /1960/, щавелевоуксусная кислота является сильным ингибитором малатдегидрогеназы /I.I.I.37/ и, в особенности, сукцинатдегидрогеназы /I.3.99.I/. Глутаминовая кислота, переаминируясь со щавелевоуксусной кислотой, превращает её в аспарагиновую, тем самым снимает ингибирующее влияние этой кислоты на активность малатдегидрогеназы /I.I.I.37/ и дегидрогеназы янтарной кислоты /I.3.99.I/, что в свою очередь способствует ускорению реакций цикла Кребса.

Нельзя не учитывать также способность глутаминовой кислоты повышать активность некоторых дыхательных ферментов /Удинцев и др., 1960, 1960а, 1966; Михлин, 1960/ и предотвращать расщепление пиридиннуклеотидов, играющих функцию переносчиков водорода с субстратов на флавопротеиды /Kaufman, Kaplan, 1960/.

Один из механизмов стимулирующего влияния глутаминовой кисло-

ты на дыхание митохондрий, в известной мере, связан с её участием в обмене аммиака. В условиях гипоксии увеличивается выделение ионов аммония в тканях организма /Энгельгардт, Баев, 1936; Белогорский, 1949 и др./, которые связывают один из главных метаболитов цикла трикарбоновых кислот - α -кетоглутаровую кислоту и блокируют дыхание /Браунштейн, 1959; Ленинджер, 1966/. Поэтому мы полагаем, что введение избытка глутаминовой кислоты способствует нормализации содержания свободного аммиака в тканях, сохранению α -кетоглутарата и тем самым улучшению условий для осуществления реакций цикла Кребса. Высказанное предположение подтверждается экспериментами Ниловой /1966/, в которых установлено, что аммиак, добавленный в инкубационную среду в концентрации, близкой к физиологической, может стимулировать дыхание тканей. Однако высокие концентрации ионов аммония оказывают противоположный эффект.

И, наконец, нельзя не учитывать также возможности превращения глутаминовой кислоты в γ -аминомасляную кислоту и способность последней в малых концентрациях вызывать увеличение проницаемости клеточных мембран и тем самым стимулировать окислительные процессы в тканях /Бунятян, 1960; Галоян, 1961; Егян, 1961; Галоян, 1965/.

Помимо этого, было высказано предположение о том, что стимуляция аэробных процессов в митохондриях печени в условиях гипоксии, возможно, имеет связь со способностью глутаминовой кислоты повышать функциональное состояние надпочечников. С целью выяснения этого предположения нами были проделаны опыты на адреналэктомированных животных.

Адреналэктомия сопровождается разобщением дыхания с окислительным фосфорилированием в митохондриях печени /коэффициент $P:O$ снижается с 3,39 в контроле до 2,77 после адреналэктомии/. Результаты наших экспериментов согласуются с данными *Liljevoet* и *Hall* /1965/, которые обнаружили увеличение дыхания в митохондриях печени адреналэктомизированных животных с β -оксибутиратом как субстратом дыхания на 16,5%, с цитратом-на 58%, с глутаматом-на 15%. Параллельно с этим отмечено снижение коэффициента $P:O$ примерно на одну треть по сравнению с контролем. Последнее позволило авторам сделать вывод о том, что, возможно, адреналэктомия является причиной разобщения дыхания и окислительного фосфорилирования в одном из пунктов этого процесса. Если учесть, что в наших экспериментах субстратом дыхания была α -кетоглутаровая кислота, при окислении которой наблюдается четыре этапа фосфорилирования /*Copenhagen*, *Lachely*, 1952; *Скулачев*, 1962/, то вполне вероятным является предположение о том, что адреналэктомия сопровождается нарушением окислительного фосфорилирования в одном из этих пунктов.

Глутаминовая кислота в опытах с нормальным содержанием кислорода во вдыхаемом воздухе, не оказывая влияния на поглощение кислорода митохондриями, выделенными из печени адреналэктомизированных животных, способствует нормализации нарушенных процессов окислительного фосфорилирования в них и повышает коэффициент $P:O$ почти до значений нормы.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что глутаминовая кислота стимулирует синтез макроэргических фосфатных соединений в митохондриях печени адреналэктомированных животных. Еще в 1937 году Северин *et al.*, изучая дыхание ядерных эритроцитов, обнаружил в них увеличение содержания АТФ на 50% под влиянием глутаминовой кислоты. В более поздних работах Ивановым и Розенберг /1955/ было показано, что однократное введение глутаминовой кислоты белым мышам вызывает повышение количества АТФ в мозгу с 59,7 до 82,7 мг% и лишь через 24 часа концентрация этого макроэргического соединения достигает исходного уровня; введение глутамата один раз в сутки в течение трех дней поддерживает содержание АТФ примерно на уровне 82,7 мг%. *Mc Khann и Tower* /1959/ в опытах *in vitro* показали, что глутаминовая кислота повышает коэффициент $P:O$ в экспериментах с изолированными митохондриями мозга кошек. Сниженный уровень АТФ в мозге зараженных туберкулезом морских свинок /Характер, 1963/, а также в печени и в мышцах в условиях гипоксии /Захарова, 1962/ повышается после введения глутаминовой кислоты подопытным животным.

Повышенный синтез АТФ под влиянием глутаминовой кислоты, вероятно, связан не только с её стимулирующим влиянием на аэробные окислительные процессы, но и с её участием в синтезе адениловой системы /Эшштейн, 1948; Фердман и Эшштейн, 1950; Фердман, 1950/ и в превращении инозиттрифосфата в АТФ /Кометиани и Клейн, 1953; Кометиани, 1953/.

Предварительное введение глутаминовой кислоты адреналэктомированным крысам перед созданием у них состояния гипоксии, в меньшей степени стимулирует дыхание в митохондриях печени /10%/ по сравнению с неоперированными животными при тех же условиях опыта /19,6%/. Последнее, как мы предполагаем, в известной мере может служить косвенным доказательством опосредованного влияния глутаминовой кислоты на аэробные процессы клеток печени через гипофиз-адреналовую систему, в связи со способностью её оказывать стимулирующее влияние на выработку кортико-стероидов и адреналина в надпочечниках. Указанное предположение подтверждается нашими экспериментами с введением кортизона и адреналина адреналэктомированным животным, находившимся в состоянии гипоксии. Оба гормона эффективны и оказывают стимулирующее влияние на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени этих животных. Кортизонацетат стимулирует дыхание на 44% /см.стр. 79 / и поглощение неорганического фосфата на 35%, адреналин - на II и I4% соответственно /см. стр. 83 /. Эти результаты согласуются с экспериментами Васильевой, Сейфуллы и Хаванской /1965/, которыми убедительно показано в опытах *in vivo* стимулирующее влияние на дыхание и окислительное фосфорилирование АКТГ и кортизона. Поглощение кислорода гомогенатами печени после введения кортизона увеличивается с 18,2 мкА до 30,7 мкА кислорода, вместе с этим определяется значительное увеличение этерификации неорганического фосфата в аденозинтрифосфорную кислоту.

Известно / *Sutherland* , *Cochi* , 1957/, что "узким" местом в расщеплении гликогена до глюкозы является фосфорилазная реакция. Поэтому многие авторы склонны считать, что усиление образования молочной кислоты обусловлено стимулирующим влиянием адреналина на активность фосфорилазы / α -1,4- глюкофосфат-глюкозилтрансфераза, 2.4.1.1, *Osterri* и др., 1939; *Cornblath* , 1955/. Образовавшаяся при анаэробном окислении углеводов молочная кислота является хорошим энергетическим материалом: её превращения в цикле Кребса сопровождаются выделением большого количества энергии.

Дальнейшие исследования показали, что адреналин не только ускоряет анаэробное окисление глюкозы, но и стимулирует вовлечение молочной кислоты в цикл Кребса. Изложенное подтверждается данными *Driehy* и *Wick* /1958/. Этими исследователями установлено, что если через небольшой промежуток времени после инъекции адреналина подопытному животному ввести меченную по углероду молочную кислоту, то уже через 2-3 часа самая высокая радиоактивность C^{14} определяется в углекислом газе. По мнению *Driehy* и *Wick* в условиях стресса, в частности при тяжелой физической нагрузке, когда выделение адреналина усиливается, такой путь окисления молочной кислоты является важным фактором в адаптации организма к условиям гипоксии.

Как отмечено ранее, глутаминовая кислота стимулирует выработку адреналина в организме, поэтому приведенные выше данные позволяют предполагать, что один из возможных путей стимулирующего влияния глутаминовой кислоты на аэробные окислительные процессы в тканях связан с этим механизмом.

На фоне сниженного метаболизма у крыс /по данным основного обмена/, вызванного удалением щитовидной железы, глутаминовая кислота значительно повышает потребление кислорода /29%/ и неорганического фосфата /35%/ митохондриями печени этих животных, находившихся в условиях с нормальным содержанием кислорода во вдыхаемом воздухе по сравнению с таковым у тиреоидэктомизированных животных, но получавших физиологический раствор.

В состоянии гипоксии дыхание в митохондриях печени у животных с удаленной щитовидной железой повышается и достигает уровня интактных животных, находившихся в тех же условиях эксперимента. Повышение дыхания в митохондриях печени животных с удаленной щитовидной железой, возможно, обусловлено повышением выработки кортикостероидных гормонов и адреналина в состоянии стресса, вызванного гипоксией. Поэтому глутаминовая кислота в этих условиях оказывает менее выраженный эффект /12%/ на указанные процессы в митохондриях печени тиреоидэктомизированных крыс по сравнению с нормальными условиями экспериментов /29%/.

Стимуляция дыхания митохондрий печени у тиреоидэктомизированных животных под влиянием глутаминовой кислоты как в норме, так и при гипоксии, вероятно, имеет связь с усилением выработки кортикостероидов и адреналина. Как отмечалось выше, глутамат стимулирует функцию гипофиз-адреналовой системы тогда, когда организм находится в состоянии стресса /Удinceв и др., 1965, 1966, 1966а, 1966б, 1966в/. Несомненно, сама тиреоидэктомия, а также состояние гипоксии у этих животных, являются мощными стрессовыми факторами, на фоне воздействия которых и проявля-

ется стимулирующее влияние глутаминовой кислоты на выработку кортикостероидных гормонов и адреналина. А последние, как показано ранее, способны стимулировать дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени.

При воздействии такого экстремального фактора как частичная гепатэктомия /удаление 65-70% печени/ отмечается разобщение дыхания с окислительным фосфорилированием в митохондриях печени /снижение $P:O$ на 18%/ и за счет этого усиление дыхания в них на 24% на третьи сутки регенерации.

В полном согласии с обсуждаемыми результатами находятся эксперименты Novicoff и Potter /1948/, показавших увеличение активности сукцинатдегидрогеназной системы и НАД, H_2 :-цитохром C - оксидоредуктазы /1.6.2.1/ в регенерирующей печени. Орешникова, Новикова и Жданов /1965/ установили, что уже через 6 часов после удаления части печени в митохондриях этого органа увеличивается как эндогенное дыхание, так и дыхание после добавки субстратов окисления. В этих же опытах было обнаружено, что во все последующие исследованные сроки регенерации печени /12-24-48-72 и 96 часов/ поглощение кислорода митохондриями печени остается повышенным. Эти же авторы при изучении окислительного фосфорилирования не нашли изменений со стороны коэффициента $P:O$ в первые часы регенерации, однако, уже через 48 часов и во все последующие сроки этот коэффициент ниже, чем в контроле.

Глутаминовая кислота повышает дыхание в митохондриях регенерирующей печени на 19% и этерификацию неорганического фосфата в АТФ на 21%, увеличивая тем самым синтез макроэргических фосфатных соединений.

Связь между митотической активностью и энергетическим обменом установлена рядом исследователей. Так, работами *Barnett /1953/, Bullough и Laurence /1956/* показано, что низкое содержание кислорода, различные ингибиторы дыхания, а равно как и добавка разобщителей дыхания с окислительным фосфорилированием снижают митотическую активность, а АТФ снимает задержку деления клеток. Включение аминокислот в белки при регенерации зависит от присутствия АТФ /*Quastel и Zickis , 1959; Alley и Mirsky , 1957/* и увеличивается параллельно со стимулирующей синтеза АТФ /*Clerici и др., 1960/*.

Следовательно, стимуляция дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях регенерирующей печени после введения глутаминовой кислоты, несомненно, способствует созданию более оптимальных условий для осуществления метаболических процессов в этом органе. Исходя из этого, назначение глутаминовой кислоты больным с различными поражениями печени является целесообразным.

Резюмируя все изложенное выше, представляется возможным сделать заключение о том, что в настоящей работе представлены новые данные по влиянию глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени при воздействии таких стрессовых факторов как гипоксия, адреналэктомия, тиреоидэктомия и гепатэктомия. Глутаминовая кислота, стимулируя аэробные окислительные процессы в митохондриях печени, способствует нормализации метаболизма в ней и тем самым создает благоприятные условия для адаптации организма к этим

стрессовым состояниям. В свете новых представлений об адаптационных /Кириллов, 1966/ глутаминовую кислоту можно рассматривать как природное соединение, способствующее неспецифическому повышению сопротивляемости организма к воздействию различных стрессовых факторов и как вещество, способное оказывать регулирующее влияние на стресс. По-видимому, этим можно объяснить широкий диапазон патологических состояний организма, при которых применение глутаминовой кислоты оказывает благоприятный терапевтический эффект.

Некоторые высказанные нами предположения о механизме действия глутаминовой кислоты пока еще не имеют достаточно веских экспериментальных обоснований. Поэтому целесообразны дальнейшие исследования, направленные на изучение молекулярных механизмов действия глутаминовой кислоты на различные системы организма в условиях стрессовых состояний.

ВЫВОДЫ

1. Изучено влияние введения глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях, выделенных из печени интактных, адреналэктомированных и тиреоидэктомированных крыс, находившихся в нормальных условиях и в состоянии гипоксии, а также действие этой аминокислоты на указанные процессы в митохондриях, выделенных из регенерирующей печени.

2. Показано, что глутаминовая кислота не влияет на дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий печени интактных животных, находившихся в условиях с нормальным содержанием кислорода во вдыхаемом воздухе. В состоянии гипоксии глутаминовая кислота стимулирует дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени.

3. Установлено, что у адреналэктомированных животных в нормальных условиях опыта глутаминовая кислота способствует нормализации нарушенных процессов окислительного фосфорилирования и повышает коэффициент $R:O$ почти до значений нормы. В условиях гипоксии у адреналэктомированных крыс глутаминовая кислота в меньшей степени стимулирует дыхание митохондрий по сравнению с таковым интактных крыс.

4. Выявлено стимулирующее действие глутаминовой кислоты на дыхание митохондрий печени тиреоидэктомированных животных как в норме, так и в условиях гипоксии.

5. Найдено, что глутаминовая кислота стимулирует дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях регенерирующей печени.

6. Эффект введения глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени в значительной степени зависит от гормонального фона организма.

--- o o o ---

Считаю своим приятным долгом выразить искреннюю благодарность моему учителю - доктору биологических наук, профессору Арону Моисеевичу Г Е Н К И Н У за предложенную тему и повседневное руководство и помощь в выполнении настоящей работы.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- Абдинова С.А., 1962. О профилактике мертворождаемости глутаминовой кислотой. Сб.: Труды Андijanского мед.института, Ташкент, 3, 491.
- Алюв И.А., 1964. Очерки физиологии митотического деления клеток. М., 168.
- Алюв И.А., Брауде А.И., 1966. Основы функциональной морфологии клеток, М.
- Андреев А.Л., Холмзева Е.К., 1955. О лечении эпилепсии глутаминовой кислотой. Журн.невропатологии и психиатрии им.С.С.Карсакова, 55, 5, 359.
- Асатиани В.С., 1939. Руководство к биохимической методике. Тбилиси, 350.
- Ач Г., Беланж Ф., Штрауб Ф., 1953. Изменение обмена веществ в срезах коры мозга. Уровень АТФ и его изменение под влиянием глутаминовой кислоты. Укр.биох.журн., 25, 17.
- Барбашова З.И., 1960. Акклиматизация к гипоксии и её физиологические механизмы. АН СССР.
- Барбашова З.И., 1963. Современные представления о перестройках клеточного химизма в процессе акклиматизации к гипоксии. В сб.: Кислородная недостаточность, АН УССР, Киев, 380.
- Белицер В.А., Цибакова Е.Т., 1939. О механизме фосфорилирования, сопряженного с дыханием. Биохимия, 4, 516.
- Белая Н.К., 1961. Опыт лечения параличей при дифтерии глутаминовой кислотой. Педиатрия, 6, 68.
- Беленький М.И. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. ИМЛ, Ленинград, 1963.
- Белогорский М.А., 1949. Азотистый обмен при пониженном барометрическом давлении. Автореф.докт.дисс., Махачкала.
- Берзин Т., 1964. Биохимия гормонов. М.

Беспалов И.Г., Русских В., 1956. Перспективы применения оптически деятельной глутаминовой кислоты в неврологической и психиатрической практике. Тр. конф. по производству и использованию аминокислот в медицине. М., МГУ, 145

Бессонова М.И., Моисеева Л.П., 1956. Опыт лечения неврозов препаратом "лейцин" и магниевой солью глутаминовой кислоты. Тр. конф. по использованию аминокислот в медицине. М., МГУ, 101.

Брагинская Л.Л., Геллер Л.И., 1965. О некоторых методах лечения токсических поражений печени. Гигиена труда и профессиональных заболеваний, 6, 15.

Браше Ж., 1960. Биохимическая цитология. ИИЛ, М.,

Браунштейн А.Е., 1939. Ферментативная система переаминирования, её биологическое значение и механизм действия. Биохимия, 4, 6, 667.

Браунштейн А.Е., 1949. Переаминирование и химическая интеграция азотистого обмена. Седьмой Всесоюзный съезд физиологов, биохимиков и фармакологов, М., 707.

Браунштейн А.Е., 1949а. Биохимия аминокислотного обмена, М.

Браунштейн А.Е., 1950. Некоторые итоги изучения процессов обмена аминокислот, их механизма и взаимосвязей. Укр. биох. журн., 22, 3, 273.

Браунштейн А.Е., 1957. Главные пути ассимиляции и диссимиляции азота у животных, М.

Браунштейн А.Е., 1959. Некоторые черты интеграции азотистого обмена. Вестник АН СССР, 5, 45.

Браунштейн А.Е., 1960. О специфически динамическом действии белков и аминокислот. В кн.: Фосфорилирование и функция, ИЭМ, 126.

Браунштейн А.Е., Крицман М.Г., 1937. Образование аминокислот путем интермолекулярного переноса аминогрупп. Сообщ. I. Превращение /+/ глутаминовой кислоты в мышечной ткани. Булл. эксперим. биол. и мед., 3, 3, 246.

Браунштейн А.Е., Крицман М.Г., 1937а. Образование аминокислот путем интермолекулярного переноса аминогрупп. Биохимия, 2, 3, 242.

- Браунштейн А.Е., Азарх Р.М., 1944. О механизме дезаминирования ϵ -аминокислот в тканях почек. Биохимия, 9, 6, 336.
- Бресслер В.М., 1964. Энергетика клеток в процессе регенерации, её значение в биосинтезе ДНК и выполнении специфических функций. Материалы четвертой конференции по вопросам регенерации и клеточного размножения. М., 21.
- Бунятян Г.Х., 1960. О роли гамма-аминомасляной кислоты в проницаемости клеточных мембран. Вопросы биохимии, ИАН Арм.ССР, Ереван, 197.
- Бунятян Г.Х., 1963. Новые данные о роли гамма-аминомасляной кислоты в мозговой ткани. Третья Всесоюзная конференция по биохимии нервной системы. ИАН Арм.ССР, Ереван, 133.
- Вангенгейм К.А., Двалидзе Ю.Ф., Пилленкова Г.А., Удинцев Н.А., 1962. О влиянии глутаминовой кислоты на судороги, осложняющие инсулиновую гипогликемию. Сов.мед., II, 89.
- Васильева В.В., Сейфулла Х.И., Хаванская М.Г., 1965. Окислительное фосфорилирование в печени белых крыс под влиянием длительных воздействий АКГТ, кортизона и гидрокортизона. В кн.: Фармакология и химия, М., 55.
- Веселкин Н.В., Гордон Б.Г., 1953. Нарушение азотистого обмена и кислотно-щелочных отношений у собак с экк-павловским свищом. Булл. эксперим. биол. и мед., 35, 4, 53.
- Веселкин Н.В., Гордон Б.Г., 1955. Аммиачная интоксикация центральной нервной системы при нарушении деятельности печени и пути её устранения. Вопр. мед. химии, I, 6, 437.
- Верещагин С.М., Сытинский И.А., 1960. Фармакологические эффекты γ -аминомасляной кислоты. Физиол. журн., 10, 1287.
- Верещагин С.М., Сытинский И.А., Тыщенко В.П., 1961. Влияние γ -аминомасляной кислоты и ϵ -аланина на двигательные эффекты и биоэлектрическую активность анеллид и членистоногих. Журн. общей биол., 22, 6, 467.
- Вертеблнская Н.А., 1962. Тканевой механизм адаптации животных к пониженному содержанию кислорода во внешней среде. Изв. АН СССР, сер. биол., 3, 430.

Владимиров Г.Е., 1954. Функциональная биохимия мозга. ИАН СССР, М.

Владимиров Г.Е., Сытинский И.Л., 1961. Обмен γ -аминомасляной кислоты и её роль в функциональной деятельности нервной системы. Успехи совр.биол., 51, I, 4.

Владимирова Е.А., 1950. К вопросу об образовании аммиака в мозгу. О синтезе глутамина и биологической нейтрализации аммиака в головном мозгу. Бюлл.эксперим.биол.и мед., 30, II, 345.

Владимирова Е.А., 1954. Аммиак головного мозга как специфический биохимический показатель функционального состояния центральной нервной системы. В сб.: Биохимия нервной системы, АН СССР, Киев, 47.

Владимирова Е.А., 1957. Влияние условнорефлекторного возбуждения и торможения центральной нервной системы на содержание аммиака в больших полушариях головного мозга. Физиол.журн.СССР, 43, 2, II7.

Владимирова Е.А., 1963. О некоторых особенностях ферментативного образования аммиака в ткани головного мозга и значение содержания его для выяснения механизмов нервной деятельности. Третья Всесоюзная конференция по биохимии нервной системы, ИАН Арм.ССР, Ереван, 207.

Вогулкина Т.Э., Буфнякова Е.К., 1965. Некоторые биохимические сдвиги у детей, леченных глутаминовой кислотой. Вопросы гематологии и иммунологии, Свердловск, 287.

Вогулкина Т.Э., 1966. Использование глутаминовой кислоты в педиатрической практике. В сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты на организм в эксперименте и клинике. Свердловск, II0.

Волкова Т.Н., Русских В.В., 1956. Применение глутаминовой кислоты и особенности выделения некоторых аминокислот у детей с болезнью Дауна. Журн.невропатологии и психиатр.им.С.С.Карсакова, 56, 9, 750.

Волков М.С., 1963. Влияние глутаминовой кислоты на дыхательную функцию крови при гемической гипоксии. Дисс.канд.Свердловск.

Волков М.С., 1966. Влияние глутаминовой кислоты на поглощение радиоактивного йода щитовидной железой при различных формах гипоксии. В сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты на организм в эксперименте и клинике, Свердловск, 23.

Волков М.С., Мухорина К.В., Окорокова Ю.И., 1966а. Влияние длительного введения глутаминовой кислоты на функцию щитовидной железы и обмен веществ в условиях различного содержания белка и йода в рационе. В сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты на организм в эксперименте и клинике. Свердловск, 29.

Врба Р., 1956. К вопросу об участии белков нервной ткани головного мозга в процессах возбуждения и торможения. Успехи совр. биол., 3, 321.

Галеева Л.С., Согрина К.А., 1960. Влияние глутаминовой кислоты на устойчивость плодов кроликов к внутриутробной кислородной недостаточности. В сб.: Третья Уральская конференция физиологов, биохимиков и фармакологов. Ижевск, 125.

Галоян А.А., 1965. Некоторые проблемы биохимии гипоталамической регуляции. Ереван.

Галоян А.А., Манасян Р.Ф., Срапионян Р.М., 1961. Гистохимический анализ механизма действия гамма-аминомасляной кислоты на транспорт глюкозы в тканях. В сб.: Вопросы биохимии, ИАН Арм. ССР, Ереван, 109.

Гелашвили И.П., 1947. О гормональной регуляции тканевого дыхания. Сообщ. I. Влияние адреналина на потребление кислорода тканями некоторых органов. Бюлл.эксперим.биол. и мед., 24, 12, 471.

Генкин А.М., Удинцев Н.А., 1958. Влияние глутаминовой кислоты на потребление кислорода животными в условиях гипоксии. Бюлл. эксперим.биол. и мед., 35, 5, 58.

Гершенович З.С., Кричевская А.А., 1960. Аммиак в механизме нервной деятельности. Тезисы докладов У биохимической конф. прибалтийских республик и Белоруссии, посвященной 20-летию Литовской, Латвийской и Эстонской ССР. Тарту, 31.

Гершенович З.С., Эмирбеков Э.З., 1966. Синтез гамма-аминомасляной кислоты в гомогенатах мозга. Докл.АН СССР, 4, 937.

Гейтер Ю.М., Добринская М.А., Захарова А.В., Романчук Л.А., Рубина Х.М., 1961. Изменение обмена веществ в тканях при гипоксии и терапевтические воздействия. У междунар.биох.конгресс, М., 2, 158.

Гейтер Ю.М., Добринская М.А., Захарова А.В., Романчук Л.А., Рубина Х.М., Четверикова Е.К., Щербак И.Г., 1962. Терапевтическое воздействие на измененные показатели обмена веществ в тканях белых крыс при гипоксии. В сб.: Влияние кислородной недостаточности на обмен веществ в тканях. Л., 2, 44.

Гейтер Ю.М., Борисов П.И., Добринская М.А., Захарова А.В., Куликова А.И., Петухов М.И., Помыткин Н.П., Поступаев П.П., Романчук Л.А., Рубина Х.М., Таранова Н.П., Четверикова Е.К., Щербак И.Г., 1966. Влияние кислородной недостаточности на обмен веществ в мышцах. В сб.: Всесоюзная конференция по мышечной биохимии. Наука, 35.

Геницинский А.Г., Гальперин С.И., Лейбсон Л.Г., 1930. Влияние адреналэктомии на кровоснабжение и газообмен работающей мышцы теплокровного животного. Русский физиол. журнал, 13, 723.

Гордон Б.Г., 1963. О метаболизме аммиака в ткани мозга при экспериментальном поражении печени. В сб.: Третья Всесоюзная конф. по биохимии нервной системы. ИАН Арм. ССР, Ереван, 237.

Горбунова З.В., Ясакова О.И., Удинцев Н.А., 1960. Влияние глутаминовой кислоты на окислительные процессы при недостаточности кровообращения у больных с ревматическими пороками. Терапевт. архив, 32, 8, 50.

Горлова Н.Н., 1960. Применение глутаминовой кислоты при осложненных родах, как метод профилактики мертворожденности. В сб.: Свердловский научно-исследовательский институт ОММ. Итоговая научная сессия. Свердловск.

Гот А., 1962. Действие аминокислот на активность системы гипофиз - кора надпочечников. Проблемы эндокринол. и гормонотерапии, 1, 33.

Грин Д.Е., 1952. Цикл лимонной кислоты и циклофоразная система. В кн.: Дыхательные ферменты, ИИЛ, М., 296.

Грин Д.Е., 1961. Структура и функция субклеточных единиц. Пятый международ. биох. конгресс, М.

Грин Д.Е., 1962. Строение и функция митохондрий. В кн.: Структурные компоненты клетки, ИИЛ, 78.

Грин Д.Е., 1964. О биологических мембранах. Молекулярная биология. Наука, М., 260.

Грин Д.Е., Флейшер С., 1964. Молекулярная организация биологических преобразующих систем. Горизонты биохимии, Мир, 293.

Громова К.Г., 1960. Содержание КоА в головном мозгу при его анемии и возбуждении. Фосфорилирование и функция. ИЭМ, Л., 284.

Громова Э.Г., 1963. О функциональном состоянии гипофиз-адреналовой системы в процессе пищеварения. Бюлл.эксперим.биол. и мед., 1, 21.

Губарев В.Л., 1959. Влияние некоторых аминокислот на возбудимость рецепторов. В кн.: Значение белка в питании здорового и больного человека. Медгиз, М., 78.

Добринская М.А., 1962. Влияние глутаминовой кислоты на показатели углеводного обмена тканей белых крыс в условиях гипоксии. В кн.: Влияние кислородной недостаточности на обмен веществ в тканях. Л., 2, 49.

Драгунова Н.С., 1955. Лечение детских церебральных параличей глутаминовой кислотой. Педиатрия, 2, 59.

Дзякова А.М., Силантьева З.М., Протодьяконова Т.Н., 1966. Легидрогеназная активность тканей при острой кровопотере и оживлении. Укр.биох.журн., 38, 1, 95.

Дяблова П.Е., 1960. Влияние глутаминовой кислоты на холинэргическое возбуждение в центральных и периферических синапсах. Бюлл.эксперим.биол. и мед., 49, 1, 83.

Дяблова П.Е., 1960а. Влияние глутаминовой кислоты на холинэргическое возбуждение в нервно-мышечных синапсах. Физиол.журн. СССР, 6, 690.

Дяблова П.Е., 1961. Влияние глутаминовой кислоты, аспарагина и аланина на сократительную функцию скелетной мышцы и на сенсibilизацию её к ионам калия. Бюлл.эксперим.биол. и мед., 3, 57.

Дяблова П.Е., 1962. Влияние глутаминна и γ -аминомасляной кислоты на процессы возбуждения в центральных синапсах. Бюлл.эксперим.биол. и мед., 1, 66.

Егян В.Б., 1961. Влияние гамма-аминомасляной кислоты на поглощение глюкозы мозгом. В сб.: Вопросы биохимии, ИАН Арм.ССР, Ереван, 35.

Калыбика Л.Т., 1963. Опыт лечения рахитической миопатии глутаминовой кислотой. Вопросы педиатрии. Труды Воронежского мед.института, 50, 2, 87.

Жордания Ю.Д., 1965. К вопросу о применении глутаминовой кислоты при слабости родовой деятельности. Автореф.кандид.дисс., Тбилиси.

Замотаев И.П., Удинцев Н.А., 1961. О влиянии глутаминовой кислоты на некоторые показатели обмена у больных пневмосклерозом. В сб.: Новое в физиологии и патологии в дыхании. М., 84.

Замотаев И.П., 1966. Влияние глутамата кальция на внешнее дыхание больных диффузным пневмосклерозом. Клиническая мед., 5, 89.

Замотаев И.П., 1966а. Влияние глутамата кальция на некоторые показатели гемодинамики больных диффузным пневмосклерозом. В сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты на организм в эксперименте и клинике. Свердловск, 100.

Замотаев И.П., Удинцев Н.А., Астафьев Д.А., 1966. Уровень 17-оксикортикостероидов крови больных пневмосклерозом при введении глутамата кальция. Материалы 29 годичной научной сессии Свердловского мед.института. Свердловск, 155.

Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захаря Е.А., 1962. Лабораторные животные. Киев.

Захарова А.В., 1962. Влияние глутаминовой кислоты на содержание АТФ, минерального фосфата и креатинфосфата в тканях крыс в условиях гипоксии. В сб.: Влияние кислородной недостаточности на обмен веществ в тканях, Л., 2, 53.

Збарский И.Б., 1957. Проблемы биохимии клетки. Вестн.АН СССР, 8, 26.

Иванов В.И., Розенберг П.А., 1955. Влияние глутаминовой кислоты на содержание фосфорных соединений в мозгу. Бюлл.эксперим. биол. и мед. 39, 2, 33.

Казакова Т.Б., 1964. Мембранный механизм эффекта Кребтри. Первый Всесоюзный биохимич. съезд. АН СССР, I, 79.

Казакова Т.Б., 1965. Молекулярная структура и проницаемость митохондрий живой клетки. Успехи совр. биол., 60, 2, 198.

Каминский Э.Т., 1966. Влияние глутаминовой кислоты и некоторых других веществ на содержание нуклеиновых кислот и азота белка в печени в разные сроки после частичной гепатэктомии. В сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты на организм в эксперименте и клинике. Свердловск, 61.

Кириллов О.И., 1966. Опыт фармакологической регуляции стресса. АН СССР, Сибирское отд., Владивосток.

Клейн Е.Э., 1954. Окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты и её количественное распределение в разных отделах головного мозга. Сообщ. АН СССР, 15, 13.

Клейн Е.Э., 1956. Глутаминовая кислота в обмене веществ головного мозга. Усп. совр. биол., 2, 161.

Колосовский Б.Н., Русских В., 1955. К вопросу о применении глутаминовой кислоты при недоразвитии мозга типа болезни Дауна. Педиатрия, 2, 42.

Кометiani П.А., 1951. Связь окисления глутаминовой кислоты с синтезом ацетилхолина в экстрактах головного мозга. Сообщ. АН СССР, 12, 17.

Кометiani П.А., Клейн Е.Э., 1953. О путях ресинтеза аденозинтрифосфата. Реаминирование инозинтрифосфата гомогенатами головного мозга. Сообщ. АН СССР, 14, 408.

Кометiani П.А., 1954. Исследование распределения и превращений фосфорилхолина, этаноламин фосфата и глутаминовой кислоты в мозгу. В кн.: Биохимия нервной системы, 98.

Кравец Э.М., Бенедикт А.А., 1956. Лечение кальциевой солью глутаминовой кислоты кровоизлияний в центральную нервную систему у новорожденных. Труды конф. по производству и использованию аминокислот в медицине, МГУ, 135.

Крепе Е.М., Смирнов А.А., Четвериков Д.А., 1954. Новые данные по сравнительному изучению фосфорного обмена в разных отделах головного мозга и при разных функциональных состояниях, вызванных кислородным голоданием мозга. В кн.: Биохимия нервной системы, Киев, 125.

Крицман М.Г., Мелик-Саркисян С.С., 1948. Синтез аминокислот α -кетокислот и аммиака в печени и в почках. Биохимия, 13, 3, 228.

Куликова А.И., 1966. Влияние гипоксии на содержание компонентов адениловой системы в скелетных мышцах и сердце крыс. Вопр. мед. химии, 12, 6, 606.

Куфф Е., Шнейдер В., 1957. Внутриклеточное распределение ферментов. Биохимическая гетерогенность митохондрий. Проблемы цитофизиологии, ИИЛ, М., 226.

Ленинджер А.Л., 1962. Промежуточные ферментативные реакции сопряжения фосфорилирования и переноса электронов. Труды пятого междунар. биох. конгресса, 253.

Ленинджер А.Л., 1964. Связанные с дыханием механохимические изменения в митохондриях. Горизонты биохимии, Мир, М., 326.

Линдберг С., Эрнстер Л., 1957. Химия и физиология митохондрий и микросом. Проблемы цитофизиологии, ИИЛ, М., III.

Ленинджер А.Л., 1966. Митохондрия. Мир, М.

Литвин А.А., 1966. Применение глутаминовой кислоты при хронических формах психических заболеваний. Тр. конф. по производству и использованию аминокислот в медицине. МГУ, 74.

Майстер А., 1961. Биохимия аминокислот. ИИЛ, М.

Макарова А.Ф., 1958. Влияние различного характера мышечной деятельности на АТФ-азную активность миозина. Укр. биох. журн., 30, 2, 230.

Мамлюк В.И., 1965. Активность цитохромоксидазы органов морской свинки при аноксии. Укр. биох. журн., 3, 408.

Мамаева В.В., 1955. Содержание дикарбоновых аминокислот и их амидов в животном организме. Биохимия, 4, 20, 450.

Михлин Д.М., 1960. Биохимия клеточного дыхания. ИАН СССР.

Мовсеян С.Г., 1961. Действие гамма-аминомасляной кислоты на поглощение глюкозы различными тканями. В сб.: Вопросы биохимии, ИАН Арм.ССР, Ереван, 103.

Монахов Н.К., 1964. О биохимических функциях сердечных митохондрий различного типа. Биохимия, 29, 5, 955.

Монахов Н.К., 1966. О функциональной гетерогенности митохондрий нормальной и опухолевой клеток. Митохондрии, структура и функция. Наука, М., 45.

Назарова Э.М., Эдельштейн Э.А., 1958. Применение аминокислот при лечении некоторых заболеваний нервной системы у детей. Труды конф. посвященной 40-летию научных исследований в области белка и применения аминокислот в советской медицине. М., 202.

Нейфак С.А., 1964. "Мембранная" гипотеза регуляции энергетического обмена клетки. Первый Всесоюзный биох. съезд. АН СССР, 1, 79.

Никифоров А.П., 1966. О влиянии введения глутаминовой кислоты на содержание свободных аминокислот в тканях в норме и при гипоксии. В сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты на организм в эксперименте и клинике. Свердловск, 47.

Нилова Н.С., 1966. Аммиак и ГАМК-трансаминазная активность ткани головного мозга. Докл. АН СССР, 166, 2, 483.

Нилова Н.С., 1966а. Влияние аммиака и ацетилхолина на аспартат-аминотрансферазную активность ткани головного мозга. Вопр. мед. химии, 12, 5, 514.

Новикова Н.М., 1956. Изменение состава ткани печени молодых животных при регенерации и "возбужденном" синтезах. Уч. Зап. Хабаровского института, 68, 21.

Оганесян А.С., 1961. Влияние глутаминовой кислоты на некоторые стороны деятельности почек. Изв. АН Арм.ССР, 14, 1, 69.

Окунева Г.Н., Архипова Г.Ф., Сергеев Е.Н., 1964. Изменение обменных процессов в миокарде под влиянием норадреналина и адреналина при различных методах кардиоплегии. Адреналин и норадреналин, Наука, 203.

Орешникова Н.А., Новикова М.А., Жданов Г.Л., 1965. Дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий регенерирующей печени. *Вопр. мед. химии*, II, 3, 67.

Острецова И.Б., Сытинский И.А., 1962. Декарбоксилаза глутаминовой кислоты. *Укр. биох. журн.*, 34, 3, 456.

Павлов И.П., Ган М., Массен В.Н., Невский М., 1892. Экзоксический свищ вен нижней полой и воротной и его последствия для организма. *Архив биол. наук*, I, 4, 400.

Палладина Л.И., Гудина А.М., 1958. Ферментативные процессы в печени при регенерации. *Укр. биох. журн.*, 30, 6, 865.

Палладина Л.И., Гудина А.М., 1960. Влияние некоторых органических аминокислот, введенных в организм, на окислительно-восстановительные процессы в регенерирующей печени. *Укр. биох. журн.*, 32, 6, 867.

Петухов М.И., 1960. Влияние гипоксии и АКТГ на состояние углеводного резерва тканей белых крыс. *Бюлл. эксперим. биол. и мед.*, 49, 3.57.

Поемный Ф.А., Никольская З.А., 1956. Опыт лечения арахно-энцефалита препаратом "лейцин" и магниевой солью глутаминовой кислоты. *Тр. конф. по производству и использованию аминокислот в медицине*, МГУ, 89.

Пульман М.М., 1956. Применение некоторых аминокислот в хирургической клинике. *Тр. конференции по производству и использованию аминокислот в медицине*. МГУ, 140.

Путилина Ф.Е., 1965. Обмен глюкозы, пирувата и ацетата в мозге и печени в норме и при гипоксии. *Автореф. кандид. дисс.*, Ленинград.

Рачо Русев Рачев, 1966. О влиянии метатиринина на процесс окислительного фосфорилирования в митохондриях сердца гипертиреоидных животных. *Проблемы эндокринологии и гормонотерапии*, 2, 105.

Славкина В.М., 1965. Глутаминовая кислота при лечении детей, больных ревматизмом. В сб.: *Актуальные вопросы детской патологии*. Саратов, 45, 190.

Слайтер Е., Хьюлсман У., 1962. Регуляция внутриклеточного дыхания. В кн.: Регуляция внутриклеточного обмена. ИИЛ, М.

Слайтер Е., 1962а. Механизм разобщения окислительного фосфорилирования динитрофенолом. Труды пятого международного биохим. конгресса. АН СССР, 5, 343.

Северин В.А., 1937. Ресинтез аденозинтрифосфорной кислоты при окислении Δ -кето- и аминокислот в ядерных эритроцитах. Биохимия, 2, 1, 60.

Северин С.Е., 1960. Определение и условия сохранения сопряженности между дыханием и окислительным фосфорилированием. В сб.: Фосфорилирование и функция, ИЭМ, Л., III.

Северин С.Е., 1962. Биологическое окисление и окислительное фосфорилирование. Химические основы процессов жизнедеятельности. Медгиз, М.

Северин С.Е., 1964. Энергетическое обеспечение физиологических функций. АН СССР.

Сидорова В.Ф., Рябинина З.А., 1960. В кн.: Регенерация органов у млекопитающих. Под ред. проф. Лознера. Медгиз, И., 199.

Скулачев В.П., 1962. Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи. ИАН СССР.

Скулачев В.П., 1964. Сопряжение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи; его механизм и функциональная регуляция. Первый Всесоюз. биохим. съезд. ИАН СССР, I, 73.

Скулачев В.П., 1964а. Роль адениннуклеотидов в фосфорилирующем дыхании и физиологические функции окислительных процессов. Успехи биол. химии, 6, 180.

Скулачев В.П., Евтодменко Ю.В., Смирнова Е.Г., Чистяков В.В., Ясаятис А.А., 1966. О механизме фосфорилирующего окисления в дыхательной цепи. В сб.: Митохондрии, структура и функция. Наука, М., 100.

Скулачев В.П., Евтодменко Ю.В., Ясаятис А.А., Смирнова Е.Г., Чистяков В.В., 1966а. Обратимое подавление переноса электронов между цитохромами В и C_I . Вopr. мед. химии, 12, 4, 438.

Стуруа Г.Г., 1954. Азотистый обмен при кислородной недостаточности. Автореф. канд. дисс. М.

Сулимо-Самуйло З.К., 1952. Влияние пониженного парциального давления кислорода на тканевое дыхание. Дисс. Военно-мед. акад. им. С.М. Кирова, Ленинград.

Сунь-Цзун-и, Ли Цзун-мин, 1958. Глутаминовая кислота при лечении печеночной комы. Чжункуа пейка Цза-чжи, 6, 2, 671. Р.ж. биол. химии, 1960, 22, 108538.

Тарве У.С., 1963. Нарушение в мозгу окислительного фосфорилирования и некоторых этапов трикарбонового цикла при экспериментальном накоплении аммиака и влияние глутаминовой кислоты и витамина С. Третья Всесоюзная конференция по биохимии нервной системы. ИАН Арм. ССР, Ереван, 271.

Туровский В.С., 1964. О нарушении проницаемости мембран митохондрий сердца при адреналовых поражениях миокарда. Вопр. мед. химии, 10, 6, 600.

Удинцев Н.А., Мазурик В.К., 1960. Влияние глутаминовой кислоты на активность некоторых дыхательных ферментов в условиях физической работы и в период отдыха после нее. Третья Уральская конференция физиологов, биохимиков и фармакологов, посвященная 40-летию Удмуртской АССР, Ижевск, 158.

Удинцев Н.А., 1960а. Влияние глутаминовой кислоты на активность некоторых тканевых ферментов в условиях гипоксии и физической нагрузки. Укр. биох. журн., 32, 6, 857.

Удинцев Н.А., Низовцев В.П., Морозова Н.М., Тюшева А.Д., Мазурик В.К., 1961. О механизме действия глутаминовой кислоты, как фактора, стимулирующего окислительные процессы в условиях гипоксии. Новое в физиологии и патологии дыхания. М., 236.

Удинцев Н.А., 1965. О влиянии некоторых аминокислот на функцию системы гипофиз-кора надпочечников. Укр. биох. журн., 1, 117.

Удинцев Н.А., Астафьев Д.А., 1966. Влияние глутаминовой кислоты на уровень гидрокортизона в крови морских свинок. В сб.: Вопросы гинекологической эндокринологии. Свердловск, 51, 101.

Удинцев Н.А., Наугольных Э.З., Кокорева Н.С., 1966а. Синтез кортикостероидов в гомогенате коры надпочечников под влиянием некоторых аминокислот. Материалы 29 годичной научной сессии Свердловского медицинского института. Свердловск, 42.

Удинцев Н.А., Наугольных Э.З., Кокорева Н.С., 1966б. Влияние глутаминовой и некоторых аминокислот на стероидогенез в коре надпочечников быка. В сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты на организм в эксперименте и клинике. Свердловск, 5.

Удинцев Н.А., Парунов В.И., 1966в. Функциональное состояние гипофиз-адреналовой системы при совместном введении кортизона и глутаминовой кислоты в условиях стресса. В сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты на организм в эксперименте и клинике. Свердловск, 12.

Удинцев Н.А., Якин Ф.В., 1966. Изменение активности транскеталазы гомогената надпочечника морской свинки под влиянием глутаминовой и некоторых других аминокислот. В сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты на организм в эксперименте и клинике. Свердловск, 9.

Узбекова Д.Г., 1962. Влияние глутаминовой кислоты и кофеина на содержание глутамина, аммиака, глутаминовой кислоты и аденозинтрифосфорной кислоты в полушариях головного мозга. Вопросы мед. химии, 8, 1, 83.

Умбрейт В.В., Буррис Р.Х., Штрауффер Д.Ф., 1951. Манометрические методы изучения тканевого обмена. ИИЛ, М.

Утевский А.М., 1939. Биохимия адреналина. Харьков.

Утевский А.М., 1944. Продукты окисления адреналина и строение симпатинов. Усп.соврем.биол., 18, 145.

Утевский А.М., 1959. Исследование продуктов обмена адреналина и их значение для физиологии и патологии. В кн.: Проблемы и достижения в физиологии и патологии эндокринных функций. Харьков, 17, 83.

Утевский А.М., 1964. Обмен катехоламинов и его функциональное значение. В кн.: Адреналин и норадреналин. Наука, М., 8.

Фердман Д.Л., 1950. О процессах образования и устранения аммиака в животном организме. Усп.биол.химии, 1, 216.

Фердман Д.Л., Эпштейн С.Ф., 1950. Об устранении введенного в организм аммиака. Укр.биох.журн., 22, 4, 481.

Фердман Д.Л., Силакова А.И., 1951. Аммиак, глутамин и глутаминовая кислота в скелетных мышцах при гипоксических состояниях. ДАН СССР, 80, 4, 657.

Фишер А., 1961. Физиология и экспериментальная патология печени. ИАН Венгрии, Будапешт.

Франк Г.М., 1964. Структурно-функциональные соотношения в живой клетке в свете новых методов исследования. Вестник АН СССР, 2, 27

Френкель С.Р., Гордиенко Э.Л., 1963. Данные о характере и механизмах сдвигов в системе превращений аммиака в мозгу при резких нарушениях его функции под влиянием различных веществ. Третья Всесоюзная конференция по биохимии нервной системы, ИАН Арм.ССР, Ереван, 223.

Характер Ж.З., 1963. Влияние глутаминовой кислоты на обмен фосфорных соединений крови и мозга при экспериментальном туберкулезе. Проблемы туберкулеза, 12, 70.

Хачатрян Л.Л., 1964. Исследование дыхания и фосфорилирования в сердечной мышце кролика при экспериментальном инфаркте миокарда. Вopr.мед.химии, 10, 2, 201.

Хогбум Д., Шнейдер В., 1957. Цитоплазма. В сб.: Нуклеиновые кислоты. ИИЛ, М., 102.

Холлес Б., 1958. Влияние излучений на обмен веществ в регенерирующей печени крысы. В кн.: Ионизированные излучения и клеточный метаболизм. Под ред. М.Н.Мейс, ИИЛ, 276.

Хоррекер Б., Хайят Г., 1961. Пути углеводного обмена в здоровых и опухолевых клетках. Современные проблемы биохимии, ИИЛ, 262.

Чаговец Н.Р., 1959. Биохимические изменения в мышцах, вызванные однократной и повторной работой большой продолжительности. Укр.биох.журн., 2, 204.

Чечулин Ю.С., Глаголева В.В., 1964. Ультраструктура сердца на ранних стадиях инфаркта миокарда. ДАН СССР, 158, 2, 484.

Шабаташ А.Л., 1966. Морфологическая /электронно-микроскопическая и гистохимическая/ организация митохондрий в различные фазы клеточных функций. Митохондрии, структура и функции. И.Наука, М., 5.

Шапот В.С., 1952. О природе особой чувствительности головного мозга к кислородной недостаточности. Усп.совр.биол., 34, 2/5/, 245.

Шапот В.С., Громова К.Г., 1954. Энергетический обмен головного мозга и проблема гипоксических состояний. В кн.: Биохимия нервной системы. АН УССР, Киев, 139.

Шаттенштейн Д.И., Зыкова К., 1935. Материалы по вопросу о нервной регуляции тканевого дыхания. Влияние атропина и адреналина на тканевое дыхание. Архив биол.наук, 40, 71.

Шень Вэнь-Мэй, 1963. Окислительное фосфорилирование и оптическая плотность митохондрий нормальной и регенерирующей печени крыс подвергнутых общему облучению рентгеновскими лучами. Радиобиология, 3, 2, 159.

Шёстранд Ф., 1957. Ультраструктура митохондрий. Проблемы цитофизиологии, ИИЛ, М., 100.

Шёстранд Ф., 1959. Ультраструктура клеток, наблюдаемая в электронном микроскопе. Вопросы электронной микроскопии, ИИЛ, 9.

Шёстранд Ф., 1963. Морфология упорядоченных биологических структур. В кн.: Функциональная морфология клеток, ИИЛ, 68.

Шнейдер В., 1957. Роль структурных факторов в регуляции обмена. Проблемы цитофизиологии, ИИЛ, М., 17.

Энгельгард В.А., Баев А.А., 1936. Превращение аммиака в связи с дыханием клетки. Биохимия, I, I, 113.

Эпштейн С.Ф., 1948. Данные по изучению аэробного устраниения аммиака в тканях животного организма. Укр.биохим.журн., 20, 138.

Эпштейн С.Ф., Никонова В.А., Спиллоти З.И., 1966. Углеводно-фосфорный обмен в скелетной и сердечной мышцах при гипоксии. Всесоюзная конференция по мышечной биохимии. И. Науки, 153.

Эрнстер Л., 1962. Фосфорилирование, происходящее во флавиновой области дыхательной цепи. Труды пятого международного биохимического конгресса, симп. 5, АН СССР, 129.

Этингоф Р.Н., Щуколюков С.А., 1963. О влиянии витамина А на набухание и окислительное фосфорилирование митохондрий печени белых крыс. Вопросы мед. химии, 9, 5, 535.

Юдаев Н.А., Лебедева М.Б., 1963. О роли коры надпочечников в процессах адаптации глюкозо-6-фосфотазы печени у крыс. Вопросы мед. химии, 9, 3, 267.

Ямомото, 1960. Влияние свободных аминокислот на обмен глюкозы в мозгу. Р.ж. биол. химии, 21, 30, 122.

ALBERS R.W., SALVADOR R.A., 1958, Ultramicro Method for Determination of Succinic Semialdehyde: Properties and Distribution of the Y-Aminobutyric-alpha-Ketoglutaric Transaminase in Nervous Tissues, *Federat Proc.*, 17, 2.

ALLFREY V.G., MIRSKY A.E., 1957, The Role of Desoxyribonucleic Acid and Other Polynucleotides in ATP Synthesis by Isolated Cell Nuclei, *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 43, N7, 589.

AWAPARA J., LANDUA A.J., FUERST R., SEALE B., 1950, Free Y-Aminobutyric Acid in Brain, *J. Biol. Chem.*, 187, 35.

BALAZS R., 1965, Control of Glutamate in Brain and Liver Mitochondrial Systems, *Bioch. J.*, 95, N2, 497.

BARKER S.B., 1951, Mechanism of Action of the Thyroid Hormone, *Physiol. Revs.*, 31, 205.

BARNETT R.C., 1953, Cell Division Inhibition of *Arbacia* and *Chaetopterus* Eggs and its Reversal by Krebs Cycle Intermediates and Certain Phosphate Compounds, *Biol. Bull.*, 104, 263.

BAREMORE A., ELLIOT K.A., FLOREY E., 1956, Factor I and Y-aminobutyric Acid, *Nature*, 176, 1052.

BAXTER F., ROBERTS E., 1958, The Y-aminobutyric Acid-alpha-Ketoglutaric Acid Transaminase of Beef Brain, *J. Biol. Chem.*, 233, 1135.

BERL S., TAKAGAKI G., CLARKE D.D., WEALSCH H., 1962, Metabolic Compartments in vivo, *J. Biol. Chem.*, 237, 8, 2562.

BESSMAN S.P., ROSSEN S., LAYNE E.C., 1953, Y-aminobutyric Acid- Glutamic Acid Transamination in Brain, *J. Biol. Chem.*, 201, 385.

BORGSTRÖM B., SUDDUTH H.C., LEHNINGER A.D., 1955, Phosphorilation Coupled to Reduction of Cytochrome "C" by Beta-Hydroxybutyrate, J. Biol. Chem., 215, N2, 571.

BORST P., SLATER E.C., 1959, Need for Inorganic Phosphate in Oxidations Stimulated Dinitrophenol, Nature, 184, 1396.

BORST P., SLATER E.C., 1960, The Oxidation of Glutamate by Rat-Heart Sarcosomes, Bioch. et Biophys. Acta, 41, 170.

BORST P., 1962, The Pathway of Glutamate Oxidation by Mitochondria Isolated from Different Tissues, Bioch. et Biophys. Acta, 57, 256.

BRONK J.R., 1958, Some Effects of Thyroxine on Oxidative Phosphorilation in Submitochondrial Particles and Intact Mitochondria, Biochem et Biophys. Acta, 27, N3, 667.

BRONK J.R., BRONK M.S., 1962, The Influence of Thyroxine on Oxidative Phosphorilation in Mitochondria from Thyroidectomized Rats, J. Biol. Chem., 237, 3, 897.

BRONK J.R., 1963, The Influence of Thyroxine on Oxidative Phosphorilation and Related Reactions, Bioch. et Biophys. Acta, 69, 375.

BRONK J.R., 1963a, The Nature of Energy Requirement to Amino Acid Incorporation by Isolated Mitochondria and its Significance for Thyroid Hormone Action, Proc. Nat. Acad. Sci., 50, 524.

BRONK J.R., 1963b, Thyroid Hormones: Control of Terminal Oxidation, Science, 141, 3583, 816.

BRUES A., DRURY D., BRUES M., 1936, A Quantitative Study of Cell Growth in Regeneration Liver, Arch. Path., 22, 6, 658.

BULLOUGH W.S., LAURENCE E.B., 1956, Energy Relations of Mitotic Activity in Mouse Hair Bulbs, *Nature*, 178, 4527, 266.

BURTIN S.D., ROBBINS E.D., BYER S.O., 1956, Utilisation of Glucose by Hyperthyroid Isolated Rat Liver, *Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.*, 92, 272.

CEDRANGOLA F., 1959, Acide Glumique Biochemie et Applications Therapeutiques, *Ann. Pharmac. Franc.*, 17, 5, 368.

CHAIKIN N.W., KÖNIGSBERG M.S., SCHWIMMER M., 1956, Glutamic Acid in Hepatic Coma, *Amer. J., Gastroenterol.*, 26, N3, 258.

CHANCE R., WILLIAMS C.R., 1955, Respiratory Enzymes in Oxidative Phosphorilation, *J. Biol. Chem.*, 217, 1, 383.

CHAPPELL J.B., GREVILLE G.D., 1960, Mitochondrial Swelling and Electron Transport, *Biochem. et Biophys. Acta*, 38, 3, 483.

CHAPPELL J.B., GREVILLE G.D., 1961, Effects of Oligomycin on Swelling of Isolated Liver Mitochondria, *Nature*, 190, 502.

CLARC R., CHINN H., ELIS J., PAWEL N., CRISCUOLO D., 1954, Tissue Respiratory Studies during Altitude and Cold Exposure, *Amer. J., Physiol.* 177, 2, 207.

CLERICI E., GUDOTTI G., ROZZANO E., 1960, Oxidative Phosphorilation and Amino Acid Incorporation into Protein in Regenerating Rat-Liver, *Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.*, 105, 2, 377.

COHEN H., MEEGEL H., KLEBERG W., 1959, Enhancement of Adrenocorticotrophic Activity II Protein Hydrolysates and Amino Acids, *Am. J. Physiol.*, 16, 1, 132.

COOPER C., DEVLIN T.M., LEHNINGER A.L., 1955, Oxidative Phosphorilation in an Enzyme Fraction from Mitochondrial Ex-

tracts, Biochem. et Biophys. Acta, 18, 1, 159.

COOPER C., LEHNINGER A.L., 1956, Oxidative Phosphorilation by an Enzyme Complex from Extracts of Mitochondria, J. Biol. Chem., 219, 1, 489.

COOPER C., LEHNINGER A.L., 1956a, Oxidative Phosphorilation by an Enzyme Complex from Extracts of Mitochondria, J. Biol. Chem., 219, 1, 519.

COOPER C., LEHNINGER A.L., 1957, Oxidative Phosphorilation by an Enzyme Complex from Extracts of Mitochondria, J. Biol. Chem., 224, 561.

COOPER C., 1960, The Stimulation of Adenosine Triphosphatase in Submitochondrial particles by Sulfhydryl Reagents, J. Biol. Chem., 235, 1815.

COPENHAVER J.H., LAM H.A., 1952, Oxidative Phosphorilation: Pathway and Yield in Mitochondrial Preparations, J. Biol. Chem., 195, 225.

CORI C.F., BUCHWALD K., 1931, The Calorigenic Action of Epinephrine in Frogs before and after Hepatectomy, J. Biol. Chem., 92, 367.

CORNBLATH M., 1955, Reactivation of Rabbit Liver Phosphorylase by Epinephrine Glucagon and Ephedrine, Am. J. Physiol., 183, 240.

CRAVIOTO R.O., MOSSIEN G., QUERDO J.J., 1951, Free Amino Acids in Rat Brain during Insulin Shock, Proc. Soc. Exptl. Biol. N.J., 78, 356.

D'ADAMO A.F., HAFT D.E., 1965, An Alternate Pathway of Alpha-Ketoglutarate Catabolism in the Isolated, Perfused Rat-Liver, 240, 2, 613.

DE HAAN E.S., TAGER S.U., SLATER E.C., 1964, Pathway of Glutamate Oxidation in Rat-Liver Mitochondria, Biochem. et Biophys. Acta, 89, 2, 375.

DELVIN T.M., LEHNINGER A.I., 1956, Oxidative Phosphorylation by an Enzyme Complex from Extracts of Mitochondria, J. Biol. Chem., 219, 507.

DERACHE R., TREMOLIERIS J., GRIFFATON G., LOWY R., 1957, Effets de la Cortisone sur Synthèse Aerobique de l'acide adenosinetriphosphatique, Bull. Soc. Chim. Biol., 39, 5, 607.

DICKENS F., SALMONY D., 1956, Effects of Thyroid Hormones in vitro on Tissue Respiration, Oxidative Phosphorylation and the Swelling of Mitochondria, Bioch. J., 64, 4, 645.

DRURY D.R., WICK A.N., 1958, Epinephrine and Carbohydrate Metabolism, Am. J. Physiol., 194, 465.

DUCKWORTH M.M., 1961, Tissue Changes Accompanying Acclimatisation to Low Atmospheric Oxygen in the Rat, J. Physiol., 156, 603.

EISMAN B., BAKEWELL W., CLARK G., 1956, Studies in Ammonia Metabolism. I. Ammonia Metabolism and Glutamate Therapy in Hepatic Coma, Am. J., Med., 20, 6, 890.

EULER U.S., 1930, Studien über die Beeinflussung der Gewebeeroxidation durch Adrenalin und Insulin mit besonderer Berücksichtigung der Bedeutung der Innervation, Scand. Arch., f. Physiol., 59, 123.

EVANS G., 1941, Effect of Adrenalectomy on Carbohydrate Metabolism, Endocrinol., 29, 731.

FEINEN F.J., 1955, Die Wirkung von Cystochrom "C" bei der Narkose und verschiedenen Sauerstoffmangelzuständen, Dtsch. Med. Wochschr., 80, N4, 146.

FISCHER A., 1959, Fisiologic und experimentelle Pathologie der Zeeber, Verl. Ungar. Acad. d. Wissensch., Bucurest, Academic Verslang, Berlin, s. 149.

FLOREY E., FLOREY E., 1958, Studies Distribution of Factor I in Mammalian Brain, J. Physiol., 144, 220.

GALLAGER C.H., 1960, The Mechanism of Action of Hydrocortisone on Mitochondrial Metabolism, Bioch. J., 74, 1, 38.

GEVER J., KLINGMÜLLER V., 1955, Untersuchungen über den Stoffwechsels der l(+) Glutaminsäure. Mitteilung über Wirkungen von l(+) Glutaminsäuregaben auf den Kohlenhydratstoffwechsel, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 301, N4-6, 269.

GIBERTI A., BLANCHINI P., 1954, ACTH E hormoni cortico-surrenali nella rigenerazione del fegato del ratto. Riv. Ist. sicroterap. ital., 29, N1, 87.

GLICK J.L., BRONK J.R., 1964, The Effect of Exercise on the Rate of Oxidation uptake by Rat-Liver Mitochondria, Biochem. et Biophys. Acta, 32, N1, 165.

GLICK J.L., 1966, Effect of Exercise on Oxidative Activities in Rat-Liver Mitochondria, Am. J. Physiol., 210, 6, 215.

GOLDSTEIN H., 1958, L-Glutamine as a Therapeutic Acid in Metally Afflicted Children, Arch. Pediatric., 75, 3, 89.

GOTH A., NADASODI N., STADLER E., 1957-1958, The Effect of Amino-Acids on Pituitary - Adrenal Activity, Z. Vitamin-Hormon- and Fermentforsch, 9, N3-4, 184.

GREEN D.E., LOOMIS W.F., AUERBUCH V.H., 1948, Studies of the Cyclophorase System. 1. The Complete Oxidation of Pyruvic Acid to Carbon Dioxide and Water, J. Biol. Chem., 172, 389

GREEN D.E., 1951, The Cyclophorase Complex of Enzymes, Biol. Rev., 26, 410.

GREEN D.E., CRANE F.L., 1957, Structure of the Mitochondrial Electron Transport System, Proceed. of Intern. Symp. on Enzyme Chemistry: Tokyo and Kioto, 275.

GREEN D.E., LASTER R.L., SIEGLER D.M., 1957a, Studies on the Mechanism of Oxidative Phosphorilation, Biochem. et Biophys. Acta, 23, 3, 524.

GREEN D.E., FLEISCHER S., 1963, The Role of Lipids in Mitochondrial Electron Transfer and Oxidative Phosphorilation, Biochem. et Biophys. Acta, 70, 554.

GREENDBAUM A.L., GREENWOOD F.C., HARKNESS R.D., 1954, Glutamic Dehydrogenase and Glutamic - Aspartic Transaminase in Regenerating Liver of the Rat, J.Physiol., 125, 251.

GREENBAUM A.L., BARBY F.J., 1964, The Effect of Adrenalectomy on the Metabolism of the Mammary Glands of Lactating Rats, Biochim. J., 91, N2, 303.

GRÜNDIG E., BRETSCHNEIDER R., 1959, Über die Bedeutung der Glutaminsäure für das Zentralnervensystem, N. Österreich. Zeitschrift, 4, 2-4, 370.

HASLAM R.J., KREBS H.A., 1963, The Metabolism of Glutamate in Homogenates and Slices of Brain Cortex, Bioch. J., 88, 3, 566.

HAYASHI F., 1958, Inhibition and Excitation due to Gamma-Aminobutyric Acid in the Central Nervous System, Nature, 182, 1076.

HAYASHI F., 1959, The Inhibitory Action of Gamma-Aminobutyric Acid upon the Seizure Following Stimulation of the Motor Cortex of the Dog, J. Physiol., 145, 570.

HIGGINS G., ANDERSON R., 1931, Experimental Pathology of the Liver. 1. Respiration of the Liver of the White Rat Following Partial Surgical Removals., Arch. Path., 186, 12.

HILL J.R., 1959, The Oxygen Consumption of New-Born and Adult Mammals, Its Dependence on the Oxygen Tension in the Inspired Air and on the Environmental Temperature, J. Physiol., 149, 346.

HIMWISH W.A., PETERSEN J.M., 1954, Ingested Sodium Glutamate and Plasma Levels of Glutamic Acid, J. Appl. Physiol., 7, 2, 196.

HOCHULI R., 1956, Der Einfluss einer stabilisierten Amnionflüssigkeit auf regenerierende Rattenleber nach partieller Hepatectomie, Schweiz.Z. allgem. Pathol. u. Bacteriol., 19, 3, 283.

HOCH F.L., LIPPMAN F., 1954, The Uncoupling of Respiration and Phosphorylation by Thyroid Hormones, Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 40, 10, 909.

HOGEBOM G.H., SCHNEIDER W.C., PALADE G.E., 1948, Mitochondria Cytochemical Studies of Mammalian Tissues. I Isolation of Intact from Rat-Liver; Some Biochemical Properties of Mitochondria and Submicroscopic Particulate Material, J. Biol. Chem., 172, 619.

HOGEBOM G.H., SCHNEIDER W.C., 1950, Intracellular Distribution of Enzymes. VIII. Distribution of Diphosphopyridine Nucleotide-Cytochrome "C" Reductase in Normal Mouse Liver and Mouse Hepatoma, J. Natl. Cancer. Inst., 10, 983.

HOGEBOM G.H., SCHNEIDER W.C., 1950a, Cytochemical Studies of Mammalian Tissues. III Isocitric Dehydrogenase and Triphosphopyridine Nucleotide - Cytochrome "C" Reductase of Mouse Liver, J. Biol. Chem., 186, 417.

HOGEBOM G.H., SCHNEIDER W.C., 1953, Intracellular Distribution of Enzymes. XI. Glutamic Dehydrogenase, J. Biol. Chem., 204, 233.

HÜLSMAN W.C., SLATER E.C., 1958, Relationship between the Hydrolysis of Adenosine Triphosphate and Oxidative Phosphorylation, Nature, 180, 4582, 372.

KATUNUMA NOBUCHIKO, OCADA MUTSUO. 1963, Respiratory Inhibition of T.C.A-Cycle and Control of Glutamic Acid Synthesis, by Ammonia in Rat-Liver Mitochondria, Bioch. and Biophys. Res. Communis., 12, 3, 252.

KAUFMAN B.T., KAPLAN N.O. 1960, Mechanism of Depletion of Mitochondrial Pyridine Nucleotides, Biochem. et Biophys. Acta, 39, 332.

KENNEDY E.P., LEHNINGER A.L., 1948, Intracellular Structures and the Fatty Acid Oxidase of Rat-Liver, J. Biol. Chem., 172, 847.

KLOTSCH C., 1956, Zur Frage der erhöhten Acetylcholinbildung im Gehirn nach langdauernden Glutaminsäurefütterung, Arch. Exper. Path. u. Pharmacol., 227, 8, 409.

KOHL H., 1954-1955, Die therapeutische Bedeutung einzelner Aminosäuren, Wiss. Z., Karl-Marx-Univ., Leipzig, Math-Naturwissenschaftl. Reihe, 4, 5, 451.

KORITZ S.B., PEROM F.G., 1959, The Simulation in vitro by Ca^{++} , Freezing and Proteolysis of Corticoid Production by Rat Arenal Tissues, Bioch. J., 234, 12, 3122.

KOWALEWSKY K., BEKESI G., 1961, Tissue Oxygen Consumption in Rats Treated with Cortisone and with an Anabolic Androgen, Procc. the Soc. Exper. Biol. and Med., 106, 2, 300.

KOWALEWSKY K., 1962, Activity of Succinic Dehydrogenase and Cytochrome Oxidase of Liver Mitochondria in Rats Trea-

ted with Cortisone and with an Anabolic Androgen, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 109, 4, 971.

KREBS H.A., 1935, Metabolism of Amino-Acids. IV. The Synthesis of Glutamine from Glutamic Acid and Ammonia and Enzymic Hydrolysis of Glutamine in Animal Tissues, Biochem. J., 29, 8, 1951.

KREBS H.A., EGGLESTON L.V., HEMS R., 1949, Distribution of Glutamine and Glutamic Acid in Animal Tissues, Bioch. J., 44, 159.

KREBS H.A., 1950, Manometric Determination of l-Aspartic Acid and l-Asparagine, Biochem. J., 47, 605.

KREBS H.A., BELLAMY D., 1960, The Interconversion of Glutamic Acid and Aspartic Acid in Respiring Tissues, Bioch. J., 75, 523.

KUN E., AYLING J.E., BALTIMORE B.G., 1964, Studies on Specific Enzyme Inhibitors. VIII. Enzyme - Regulatory Mechanisms of the Entry of Glutamic Acid into Metabolic Pathways in Kidney Tissue, J. Biol. Chem., 239, 9, 2889.

LAJTHA A., BERL G., WAELSCH H., 1959, Amino Acid and Protein Metabolism of the Brain. IV. The Metabolism of Glutamic Acid, J. Neurochem., 3, 4, 322.

LAUENSTEIN H.D., 1952, Die Erfahrung mit Glutaminsäure in der täglichen Praxis, Med. Klin., 47, 191.

LEHNINGER A.L., 1957, The Action of Thyroxine on Mitochondria and Oxidative Phosphorilation, Proc. Intern. Symp. on Enzyme Chemistry, Tokyo and Kyoto, 297.

LEHNINGER A.L., LOU RAY B., 1957a, Oxidation-Reduction State of Rat-Liver Mitochondria and the Action of Thyroxine, Biochem. et Biophys. Acta, 26, 643.

LEHNINGER A., 1961, Ionic Environment and the Contraction of Isolated Rat-Liver Mitochondria by Adenosine Triphosphate, Bioch. et Bioph. Acta 48, 324.

LILJEROOT B.S., HALL J.C., 1965, Oxidative Phosphorilation in Liver Mitochondria from Adrenalectomized Rats and the Response to Hormones Added in vitro, J. Biol. Chem., 240, 3, 1446.

LOWY R., DARACHE R., FREMOILLERES J., 1957, Intervention de la cortisone dans les complexes ^{enzymatiques} oxidatifs des Mitochondries. I Intervention dans les equilibres enzymeffecteurs metaboliques, Compt. Rend. Biol., 151, N4, 628.

MADSEN J., ABRAHAM S., CHAIKOFF F.U., 1964, The Conversion of Glutamate Carbon to Fatty Acid Carbon via citrate, J. Biol. Chem., 239, N5, 1305.

MALEY G., 1957, Compararion Some Enzyme Systems in Normal and Thyretoxic Rat-Liver, Am. J. Physiol., 188, 1, 35.

MARGRETH A., AZZONE G.F., 1964, A Study of Respiration in Fluoroacetate-Poisoned Muscle Preparations, Bioch. J., 92, N1, 73.

MEISTER A., KRISHASWANY P.R., VALRA PAMILJONS, 1962, Mechanism of Glutamic Acid Activation on Glumine Synthesis, Fed. Proc., 21, 6, 1013.

MAYER-GROSS W., WALKEN J.W., 1949, The Effect of l-Glutamic Acid and Other Amino-Acids in Hypoglycaemia, Bioch. J., 44, 1, 92.

MAYERS D.K., SLATER E.C., 1957a, The Enzymatic Hydrolisis of Adenosine Triphosphate by Liver Mitochondria, J. Biol. Chem. 67, 4, 572.

Mc ILWAN H., CORE M.B.R., 1951, Action of Electrical Stimulation and of 2,4-Dinitrophenol on the Phosphates in Sections of Mammalian Brain in Vitro, Bioch. J., 50, 24.

Mc ILWAIN H., 1952, Phosphates of Brain during in Vitro Metabolism Effects of Oxygen, Glucose, Glutamate, Glutamine and Calcium and Potassium Salts, Biochem. J., 52, 2, 289.

Mc KHANN G.M., TOWER D.B., 1959, Gamma-Aminobutyric Acid: A Substrate for Oxidative Metabolism of Cerebral Cortex, Am. J. Physiol., 196, 1, 36.

Mc LENNAN H., 1957, A Comparison of Some Physiological Properties of an Inhibitory Factor from Brain (Factor I) and of γ -Aminobutyric Acid and Related Compounds, J. Physiol., 139, 79.

MENGEBIER WILLIAM L., 1954, Effects of Anoxia on Respiratory Enzymes of the Rat and Hamster, Am. J. Physiol., 177, N2, 231.

MORGAN W., LEON H.A., 1963, Adenosine Triphosphatase Activity of Normal and Regenerating Rat-Liver, Exptl. and Molec. Pathol., 2, N3, 297.

MUNKVAD J., 1958, Glutamic Acid Metabolism in Schizophrenics with Special Reference to the Arterio-Venous Deficiency in Various Organs, Confinia Neurol., 18, N2, N3, N4, 239.

MUNRO H.N., MUNKERYI D., 1962, The Mechanism by which Administration of Individual Amino Acids Causes Changes in the Ribonucleic Acid Metabolism of the Liver, Bioch. J., 82, 520

MUNRO H.N., STEELE M.H., HUTCHISON W.C., 1963, Blood Corticosterone-Levels in the Rat after Administration of Amino-Acids, Nature, 199, N4399, 1182.

NACHMANSON D.A., JOHN H.M., 1943, Effects of Glutamic Acid on the Formation of Acetylcholine, J. Biol. Chem., 150, 485.

NACHMANSON D.M., WEISS M.S., 1948, Studies on Cholinacetylase. IV Effect of Citric Acid, J. Biol. Chem., 172, 677.

NEUBERT D., FOSTER G., LEHNINGER A.L., 1962, Effect of Temperature on Uptake and Extrusion of Water by Isolated Rat-Liver Mitochondria, *Biochem. et Biophys. Acta*, 60, 3, 492.

NOVICOFF A.B., POTTER V.R., 1948, Biochemical Studies of Regenerating Liver, *J. Biol. Chem.*, 173, 223.

OSTERN P., HERBERT D., HOLMES E., 1939, Formation and Breakdown of Glycogen in the Liver, *Biochem. J.*, 33, 1858.

PACKER L., 1963, Size and Shape Transformations Correlated with Oxidative Phosphorilation in Mitochondria, *J. Cell. Biol.*, 18, 3, 487.

PALADE G.E., 1952, The Fine Structure of Mitochondria, *Anat. Rec.*, 114, 427.

PERRY W.F., BOWEN HELEN F., 1957, In vitro Metabolism of Fatty Acids by Adipoze and Liver Tissue of the Adrenalectomized Rat, *Amer. J. Physiol.*, 189, N3, 433.

PETERSEN J.C., STRIPEC M.C., HIMWICH W.A., 1955, Metabolic Effect of l-Glutamic Acid and of Glycine, *Amer. J. Physiol.*, 181, 3, 519.

POTTER V.R., REIF A.E., 1951, Inhibition of an Electron Transport Component by Antimycin A, *J. Biol. Chem.*, 194, 287.

PURPURA D.F., GRIRADO M., GRUNDFEST H., 1957, Selective Blokade of Excitatory Synapses in the Cat Brain by Y-Aminobutyric Acid, *Science*, 125, 1200.

PURPURA D.P., GIRADO M., GRUNDFEST H., C 1958, Central Synapsis Effect of W-Guanidino Acids and Amino Acids Derivatives, *Science*, 127, 1179.

PURVISJ.L., 1960, Pyridine Nucleotides in Rat-Liver ^{li} mitochondria. I. The Demonstration of a New Form of Diphosphopyridine Nucleotide and of Triphosphopyridine Nucleotide, *Biochem.*

et Biophys. Acta, 38, 435.

QUASTEL F.H., BICKIS J.J., 1959, Metabolism of Normal Tissues and Neoplasms in vitro, Nature, 183, 281.

REYNATARJE B., GREEN J., 1960, Pyridine Nucleotide-Cytochrome "C" Reductases in Rats Exposed to Low Oxygen Tensions, Proc. of the Soc. Exper. Biol. and Med., 103, 1, 224.

ROBERTS E., FRANKEL S., 1950, Y-Aminobutyric Acid in Brain: its Formation from Glutamic Acid, J. Biol. Chem., 187, 55.

ROBERTS E., FRANKEL S., 1950a, Further Studies on Free Amino Acids in Normal and Neoplastic Tissues, Concer. Res., 10, 237.

ROBERTS E., FRANKEL S., 1951, Glutamic Acid Decarboxylase in Brain, J. Biol. Chem., 188, 789.

ROBERTS E., FRANKEL S., 1951a, Further Studies of Glutamic Acid Decarboxylase in Brain, J. Biol. Chem., 190, 505.

ROBERTS E., BREGO H.M., 1953, Transamination of Y-Aminobutyric Acid and Beta-Alanine in Brain and Liver, Biol. Chem., 201, 393.

ROBERTS E., ROTHSTEIN M., BAXTER C.F., 1958, Some Metabolic Studies of Y-Aminobutyric Acid, Proc. Soc. Exptl. Biol., 97, 796.

SCHNEIDER W.C., 1946, Intracellular Distribution of Enzymes. 1. The Distribution of Succinic Dehydrogenase, Cytochrome, Oxidase, Adenosintriphosphatase, Phosphorus Compounds in Normal Rat Tissues, J. Biol. Chem., 165, 585.

SCHNEIDER W.G., POTTER V.R., 1949, Intracellular Distribution of Enzymes, J. Biol. Chem., 177, 893.

SCHWARZ H.S., BARKER S.B., 1957, Oxygen Consumption of Liver Following Subtotal Hepatectomy of Normal and Hypothyroid Rats, Am. J., Physiol., 190, 209.

SCOTT A., HUNTER F.E., 1966, Support of Thyroxine-Induced Swelling of Liver Mitochondria by Generation of High Energy Intermediates at any One of Three Sites in Electron Transport, J. Biol. Chem., 241, 5, 1060.

SELINGER O.Z., CATANZARO R., CHAIN E.B., POCCHIARI F., 1962, The Metabolism of Glutamate and Aspartate in Rat Cerebral Cortical Slices, Proc. Roy. Soc., 156, 936, 148.

SJÖSTRAND F.S., RHODIN J., 1953, The Ultrastructure of the Proximal Convoluted Tubules of the Mouse Kidney as Revealed by High Resolution Electron Microscopy, Exptl. Cell. Res., 4, 426.

SJÖSTRAND F.S., 1956, Ultrastructure of Cells as Revealed by the Electron Microscope, Intern. Rev. Cytol., 5, 455.

SLATER E.C., 1957, Relationship between the ATP-ase of Mitochondria and Oxidative Phosphorylation, Proc. Inter. Symp. Enzyme Chem., Tokyo and Kyoto, 288.

STRICKLAND E.H., ACKERMAN F., ANTHONY A., 1961, Effect of Hypoxia on Heart and Liver Mitochondrial Respiration and Phosphorylation, Aerospace. Med., 32, 18, 746.

STRICKLAND E.H., 1963, Respiration and Phosphorylation in Liver Mitochondria and Homogenates from Adrenalectomized Rats, Arch. Bioch. and Biophys., 100, 1, 110.

STRICKNEY J.C., VAN LIEBE D.L., 1953, Acclimatization to Low Oxygen Tension, Physiol. Rev., 33, 13.

STILL I.L., BUELL M.W., GREEN D.E., 1950, Studies on the Cyclophosphorase System VIII Oxidation of L-Glutamate IX Oxidation of L-Alanine, Arch. Biochem., 26, 406.

SOLS A., FUENTE G., VILLAR-PALASI C., ASENSIO C., 1958, Substrate Specificity and Some Other Properties of Baker's Yeast Hexokinase, *Bioch. et Biophys. Acta*, 30, 92.

SUTHERLAND E.W., CORI C.F., 1951, Effect of Hyperglycemic -glycogenolytic Factor and Epinephrine on Liver Phosphorylase, *J. Biol. Chem.*, 188, 531.

SWANN M.M., 1953, The Mechanism of Cell-Division. A Study with Carbon Monoxide on the Sea-Urchin Egg, *Quart. J. Micro. Sci.*, 94, 4, 369.

TAGER J.M., SLATER E.C., 1963, Synthesis of Glutamate from Alpha-Oxoglutarate and Ammonia in Rat-Liver Mitochondria, *Bioch. et Biophys. Acta*, 77, 227.

TABLEY D.E., COOPER C., LEHNINGER A.L., 1955, The Action of Thyroxine on Mitochondria and Oxidative Phosphorylation, *Bioch. et Biophys. Acta*, 18, 597.

TABLEY D.E., COOPER C., 1956, The Effect of Thyroxine and Related Compounds on Oxidative Phosphorylation, *J. Biol. Chem.*, 222, 341.

TATA J.R., ERNSTER L., LINDBERG O., 1962, Control of Basal Metabolic Rate by Thyroid Hormones and Cellular Function, *Nature*, 193, 11, 1058.

TATA J.R., ERNSTER L., LINDBERG O., ARRHENIUS E., PEDERSEN S., HESMAN R., 1963, The Action of Thyroid Hormones at the Cell Level, *Bioch. J.*, 86, 408.

TEPLY L., 1949, Studies on the Cyclophorase System XIII Mechanism of Action of 2,4- Dinitrophenol, *Arch. Biochem.*, 24, 383.

THORN W., PELEIDERER G., FROWEIN R.A., ROSE J., 1955, Stoffwechselvorgänge in Gehirn bei akuter Anoxie, akuter Ischämie und in der Erholung, *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, 261, 4

TOPPAN D.V., REYNAFARJE B.D., 1957, Tissue Pigment Manifestations of the Adaptation to High Altitudes, Am. J., Physiol., 190, 1, 99.

TOPPAN D.V., REYNAFARJE B., POTTER V.K., MURTADO A., 1957a, Alteration in Enzymes and Metabolites Resulting from Adaptation to Low Oxygen Tensions, Am. J. Physiol., 190, 1, 93.

VILLEE C.A., HASTINGS A.B., 1949, The Metabolism of C^{14} -Labeled Glucose by the Rat Diaphragm in vitro, J. Biol. Chem., 179, 673.

VRBA R., 1955, Significance of Glutamic Acid in Metabolic Processes in the Rat Brain during Physiol. Exercise, Nature, 176, 4499, 1258.

WEBSTER G., 1965, Studies on Mechanism of Oxidative Phosphorylation, J. Biol. Chem., v-240, N3, 1365.

WELL-MALHERBE H., 1950, Significance of Glutamic Acid for the Metabolism of Nervous Tissue, Physiol. Rev., 30, 549.

WELL-MALHERBE H., 1952, Glutamic Acid and its Relation to the Nervous System, Bioch. J., 50, 4, xxii.

WELL-MALHERBE H., 1955, Intelligenzsteigerung durch Glutaminsäure, Grundlagen und Wirkungsweise der Glutaminsäuretherapie, Umschau, N8, 230.

WHITEHORN W.V., ULBRICK W.C., KRONE J.G., BRENNAN B.B., 1953, Influence of Low Oxygen Tensions on Respiration of Tissues of Acclimatized Rats, Fed. Proc., 12, 154.

WILSON W.E., HILL R.J., KOCPPE R.E., 1959, The Metabolism of γ -Aminobutyric Acid-4- C^{14} by Intact Rats, J. Biol. Chem., 234, 347.

WITTER R.F., COTTON M.A., 1956, A Study of Some Factors Involved in the Swelling of Isolated Mitochondria, Biochem. et

Biophys. Acta, 22, N2, 364.

WOJTEZAK L., WOJTEZAK A., 1960, Uncoupling of Oxidative Phosphorilation and Inhibition of ATP-Pi Exange by a Substance from Insect Mitochondria, Bioch. et Biophys. Acta, 39, 277.

YOKOYAMA H., WILSON M., TSUBOI K., STOWELL R., 1953, . Regeneration of Mouse Liver after Partial Hepatectomy, Canc. Res., 13, 1, 80.

ZBOROWSKI J., WOJTEZAK L., 1963, Induction of Swelling . of Liver Mitochondria by Fatty Acids of Various Chain Length., Biochem. et Biophys. Acta, 70, 596.