

На правах рукописи

Н. А. ГЛОТОВ

**ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ
НА ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИ-
РОВАНИЕ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ ПРИ
НЕКОТОРЫХ СОСТОЯНИЯХ ОРГАНИЗМА**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Свердловск
1967

На правах рукописи

Н. А. ГЛОТОВ

ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ
НА ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИ-
РОВАНИЕ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ ПРИ
НЕКОТОРЫХ СОСТОЯНИЯХ ОРГАНИЗМА

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Свердловск
1967

Работа выполнена на кафедре биологической химии (зав. проф. А. М. ГЕНКИН) Свердловского Государственного медицинского института (ректор — доцент В. Н. КЛИМОВ).

Научный руководитель — доктор биологических наук, профессор А. М. ГЕНКИН.

Диссертация представлена на 154 страницах машинописи и состоит из введения, обзора литературы (1 глава), собственных исследований (5 глав), заключения, выводов и списка литературы, содержащего 198 источников на русском языке и 152 — на иностранных. Работа иллюстрирована 19 таблицами и 9 рисунками.

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

доктор медицинских наук, профессор Я. Г. УЖАНСКИЙ,

кандидат биологических наук, доцент В. А. КОСТРОМСКАЯ

Дата защиты диссертации 2 июня 1967 г.

Дата рассылки автореферата 27 августа 1967 г.

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 и глутаминовая кислота.

Значение глутаминовой кислоты для организма определяется ее участием во многих видах обмена веществ. Легко вовлекаясь в цикл трикарбоновых кислот, она обеспечивает взаимосвязь обмена белков, углеводов и отчасти жиров (Браунштейн, 1937, 1950; Borst, 1962 и др.), оказывая тем самым регулирующее влияние на окислительные процессы и энергетический обмен в тканях. (Cedrangolo, 1959; Mc Khann, Tower, 1959; Ленинджер, 1966 и др.). Это соединение занимает доминирующее положение в устранении

свободного аммиака из тканей (Владимирова, 1950; Владимиров, 1954 и др.), участвует в синтезе мочевины, нуклеиновых кислот, глутатиона и некоторых витаминов. Не менее важным в метаболизме глутаминовой кислоты является ее способность оказывать регулирующее влияние на функцию нервной системы, что обусловлено участием этого соединения и ее метаболита — γ — аминокислоты в синтезе ацетилхолина и в энергетическом обмене мозга (Nachmanson, John, 1943; Кометиани, 1954; Буянтян, 1960; Дяблова, 1962).

Изложенное явилось основанием для широкого применения глутаминовой кислоты в клинической практике при лечении различных заболеваний. Ее 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; Жорданиа, 1965 и др.) и педиатрической (Белая, 1961; Жалыбина, 1963; Славкина, 1965; Вогулкина, 1965, 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 соединения при лечении печеночной комы (Сунь Цзэн-и, Ли Цзунь-мин, 1958) и других поражений печени (Брагинская, Геллер, 1965).

За последние годы было обнаружено стимулирующее влияние глутаминовой кислоты на функциональное состояние надпочечников (Kohen и др., 1959; 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 вы-

ступает 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.

Опыты были проведены на 320 нелинейных белых крысах-самцах весом от 110 до 240 г.

Митохондрии из печени выделяли методом дифференциального центрифугирования при температуре, не превышающей $+4^{\circ}\text{C}$.

Дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий определяли в аппарате Варбурга при температуре 26°C . Результаты выражали в микроатомах кислорода (мкАО) или фосфора (мкАР) на один мг азота митохондрий в час.

Инкубационная смесь для определения дыхания и окислительного фосфорилирования содержала: фосфатного буфера ($\text{pH}=7,4$)—40 мк м, хлористого магния—10 мк м; ЭДТА ($\text{pH}=7,4$)—2 мк м; глюкозы—80 мк м; α —кетоглutarовой кислоты ($\text{pH}=7,4$)—10 мк м; АТФ ($\text{pH}=7,4$)—5 мк м; фтористого калия—20 мк м; дрожжевой гексокиназы—3 единицы.

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

Подопытной группе крыс подкожно вводили глутаминовую кислоту из расчета 1 мг на 1 г веса в виде 10% нейтрализованного раствора глутамата натрия, контрольной—соответствующий объем физиологического раствора. Кортизонацетат в дозе 20 мг на 1 кг веса вводился один раз в сутки в течение трех дней (Юдаев, 1963), адреналин—однократно непосредственно

перед опытом из расчета 1 мг на 1 кг веса (Западнюк и др., 1962).

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 (таблица 1).

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.

Т а б л и ц а 1

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

Количество опытов		Поглощение кислорода в мкА на 1 мг азота митохондрий в час ($M \pm m$)		Поглощение фосфора в мкА на 1 мг азота митохондрий в час. ($M \pm m$)		Р:О ($M \pm m$)	
1	2	1	2	1	2	1	2
10	10	$9,87 \pm 0,61$	$10,95 \pm 0,63$	$33,40 \pm 1,82$	$36,72 \pm 1,82$	$3,39 \pm 0,11$	$3,37 \pm 0,09 \pm$
Соотношение в процентах		100	110	100	110	100	99
Р		—	>0,25	—	>0,25	—	—

1 — группа контрольных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 — группа подопытных животных, которым вводилась глутаминовая кислота.

Действие глутаминовой кислоты проявляется лишь в том случае, когда организм находится в состоянии напряжения, вызванного воздействием таких стрессовых факторов, как гипоксия, оперативных вмешательств — адреналэктомии, тиреоидэктомии и частичной гепатэктомии. Так, глутаминовая кислота повышает потребление кислорода митохондриями, выделенными из печени животных, находившихся в состоянии гипоксии (пребывание в барокамере 2 часа на «высоте» 7500—8000 м) на

19,6% (таблица 2). Такой эффект этой аминокислоты не сопровождается разобщением дыхания с окислительным фосфорилированием. Это свидетельствует о том, что под влиянием глутаминовой кислоты увеличивается синтез макроэргических фосфорных 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 ее широким участием в различных видах обмена веществ осуществляется, по-видимому, несколькими путями. Увеличение поглощения кислорода митохондриями

Т а б л и ц а 2

Влияние введения глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях, выделенных из печени крыс, находившихся в условиях гипоксии (пребывание в барокамере 2 часа на «высоте» 7500—8000 м)

Количество опытов	Поглощение кислорода в мкА на 1 мг азота митохондрий в час ($M \pm m$)		Поглощение фосфора в мкА на 1 мг азота митохондрий в час ($M \pm m$)		Р : О ($M \pm m$)	
	1	2	1	2	1	2
10 11	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
Р	—	<0,01	—	>0,1	—	>0,5

1 — группа контрольных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 — группа подопытных животных, которым вводилась глутаминовая кислота.

печени имеет тесную связь с процессами переаминирования этой аминокислоты (Haslam, Krebs, 1963; Balazs, 1965). По мнению Михлина (1960) щавелевоуксусная кислота является сильным ингибитором малатдегидрогеназы (1.1.1.37) и, в особенности, сукцинатдегидрогеназы (1.3.99.1). Глутаминовая кислота, переаминируясь со щавелевоуксусной кислотой, превращает ее в аспарагинову, тем самым снимает ингибирующее влияние этой кислоты на активность малатдегидрогеназы (1.1.1.37) и дегидрогеназы янтарной кислоты (1.3.99.1), 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, 1961; Михлин, 1960) и предотвращать расщепление пиридиннуклеотидов, выполняющих функцию переносчиков водорода с субстратов на флавопротеиды (Kauffman, Kaplan, 1960).

Один из механизмов стимулирующего влияния глутаминовой кислоты на дыхание митохондрий, в известной мере, связан с ее участием в обмене аммиака. В условиях гипоксии увеличивается выделение ионов аммония в тканях организма (Энгельгард, 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 — аминomásляную кислоту и способность последней в малых концентрациях вызывать увеличение проницаемости клеточных мембран и тем самым стимулировать окислительные процессы в тканях (Бунятян, 1960; Галоян, 1961; 1965; Егян, 1961).

Помимо этого было высказано предположение о том, что стимуляция аэробных процессов в митохондриях печени в усло-

виях 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 (таблица 3). Результаты наших экспериментов согласуются с данными Lilieroot и Chall (1965), которые обнаружили увеличение дыхания в митохондриях печени адре-

Т а б л и ц а 3

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

Количество опытов		Поглощение кислорода в мкА на 1 мг азота митохондрий в час ($M \pm m$)		Поглощение фосфора в мкА на 1 мг азота митохондрий в час ($M \pm m$)		$P:O$ ($M \pm m$)	
1	2	1	2	1	2	1	2
10	7	$9,87 \pm 0,61$	$12,15 \pm 1,14$	$33,40 \pm 1,82$	$33,67 \pm 3,07$	$3,39 \pm 0,11$	$2,77 \pm 0,10$
Соотношение в процентах		100	123	=	—	100	81
P		—	> 0,05	—	—	—	< 0,001

1 -- группа интактных животных, которым вводился физиологический раствор.
2 -- группа адреналэктомированных животных, которым вводился физиологический раствор.

налэктомированных животных с β — оксibuтиратом, как субстратом дыхания, на 16,5%, с цитратом на 58%. 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 четы-

ре этапа фосфорилирования (Copenhaver, Lardy, 1952; Скулачев, 1962), то вполне вероятно предположение о том, что адrenaлэктомия 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 адrenaлэктомированных животных, способствует нормализации нарушенных процессов окислительного фосфорилирования в них и повышает коэффициент $P:O$ почти до значений нормы (таблица 4).

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что глутаминовая кислота стимулирует синтез макроэргических фосфорных соединений в митохондриях печени адrenaлэктомированных животных.

Еще в 1937 году Северин, 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

Таблица 4

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

Количество опытов		Поглощение кислорода в мкА на 1 мг азота митохондрий в час (M ± m)		Поглощение фосфора в мкА на 1 мг азота митохондрий в час (M ± m)		P:O (M ± m)	
1	2	1	2	1	2	1	2
7	7	12,15 ± ±1,14	12,76 ± ±0,45	33,67 ± ±3,07	42,03 ± ±1,91	2,77 ± ±0,10	3,29 ± ±0,10
Соотношение в процентах		—	—	100	125	100	119
P		—	—	—	<0,05	—	<0,01

1 — группа адrenaлэктомированных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 — группа адrenaлэктомированных животных, которым вводилась глутаминовая кислота.

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 Р:О в экспериментах с изолированными митохондриями мозга кошек. Сниженный уровень АТФ в мозгу зараженных туберкулезом морских свинок (Характер, 1963), а также в печени и 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 ее стимулирующим влиянием на аэробные окислительные процессы, но и с ее участием в синтезе адениловой системы (Эпштейн, 1948; Фердман и Эпштейн,

Таблица 5

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 1 мг азота митохондрий в час	мкА фосфора на 1 мг азота митохондрий в час	Р:О
Интактные животные (вводился физиологический раствор).	10	10,12 ± 0,45	32,59 ± 2,16	3,22 ± 0,12
Интактные животные (вводилась глутаминовая кислота)	11	12,11 ± 0,43	36,60 ± 1,86	3,02 ± 0,09
Соотношение в процентах	—	+19,6 P < 0,05	+12,0 P > 0,1	—6 —
Адреналэктомированные животные (вводился физиологический раствор)	7	16,09 ± 0,40	50,92 ± 2,20	3,16 ± 0,11
Адреналэктомированные животные (вводилась глутаминовая кислота)	7	17,84 ± 0,73	58,23 ± 1,84	3,28 ± 0,28
Соотношение в процентах		+10,0 P < 0,05	+14,0 P < 0,05	+3,7 —

1950; Фердман, 1960) и в превращении инозиттрифосфата в АТФ (Кометиани и Клейн, 1953; Кометиани, 1954).

Предварительное введение глутаминовой кислоты адrenaлэктомированным 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%, таблица 5). Последнее, как мы предполагаем, в известной мере может служить косвенным доказательством опосредованного влияния глутаминовой кислоты на аэробные процессы клеток печени через гипofиз-адrenаловую систему в связи со способностью ее оказывать стимулирующее влияние на выработку кортикостероидов и адреналина в надпочечниках. Указанное предположение подтверждается нашими экспериментами с введением кортизона и адреналина адrenaлэктомированным животным, находившимся в состоянии гипоксии. Оба гормона эффективны и оказывают стимулирующее влияние на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени этих животных. Кортизонацетат в дозе 20 мг на 1 кг веса стимулирует дыхание на 44% (таб-

Т а б л и ц а 6

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

Количество опытов		Поглощение кислорода в мКА на 1 мг азота митохондрий в час ($M \pm m$)		Поглощение фосфора в мКА на 1 мг азота митохондрий в час ($M \pm m$)		P:O ($M \pm m$)	
1	2	1	2	1	2	1	2
11	6	16,09 ± 0,40	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 адrenaлэктомированных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 — группа адrenaлэктомированных животных, которым вводился кортизонацетат.

лица 6) и поглощение неорганического фосфата на 35%, адреналин — на 11% и 14% соответственно (таблица 7). Эти результаты согласуются с экспериментами Васильевой, Сейфуллы и Хаванской (1965), которыми убедительно показано в опытах *in vivo* стимулирующее влияние на дыхание и окислительное

Т а б л и ц а 7

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

Количество опытов		Поглощение кислорода в мкА на 1 мг азота митохондрий в час ($M \pm m$)		Поглощение неорганического фосфора в мкА на 1 мг азота митохондрий в час		P:O ($M \pm m$)	
1	2	1	2	1	2	1	2
6	6	$21,56 \pm 0,28$	$24,14 \pm 0,72$	$60,58 \pm 0,79$	$69,14 \pm 3,16$	$2,80 \pm 0,07$	$2,85 \pm 0,12$
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.

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, Cori, 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-глюконат: ортофосфатгликозилтрансфераза, 2.4.1.1; Osten и др., 1939. Cornblath, 1955). Образовавшаяся при анаэробном окислении углеводов молочная кислота является хорошим энергетическим

материалом: ее 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 Drury 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 его определяется в углекислом газе. По мнению Drury 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.

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; Lehninger 1957, 1957a, 1961; Bronk, 1958, 1963, 1963a; Рачо Рысев, 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 основного обмен у тиреоидэктомизированных крыс.

После тиреоидэктомии дыхание в митохондриях печени снижается на 14%, параллельно с этим уменьшается и поглощение неорганического фосфора из инкубационной среды на 16% (таблица 8).

На фоне сниженного метаболизма у крыс (по данным основного обмена), вызванного удалением щитовидной железы, глутаминовая кислота значительно повышает потребление кисло-

Т а б л и ц а 8

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

Количество опытов	Поглощение кислорода в мкА на 1 мг азота митохондрий в час ($M \pm m$)		Поглощение неорганического фосфора в мкА на 1 мг азота митохондрий в час ($M \pm m$)		Р:О ($M \pm m$)	
	1	2	1	2	1	2
9 9	$20,83 \pm 1,02$	$17,90 \pm 0,66$	$54,10 \pm 3,11$	$45,61 \pm 2,44$	$2,59 \pm 0,33$	$2,54 \pm 0,35$
Соотношение в процентах	100	86	100	84	—	—
P	—	<0,05	—	<0,05	—	—

1 — группа intactных животных, которым вводился физиологический раствор.
2 — группа тиреоидэктомизированных животных, которым вводился физиологический раствор.

Т а б л и ц а 9

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

Количество опытов	Поглощение кислорода в мкА на 1 мг азота митохондрий в час ($M \pm m$)		Поглощение неорганического фосфора в мкА на 1 мг азота митохондрий в час ($M \pm m$)		Р:О ($M \pm m$)	
	1	2	1	2	1	2
9 5	$17,90 \pm 0,66$	$23,19 \pm 1,00$	$45,61 \pm 2,44$	$61,41 \pm 4,12$	$2,54 \pm 0,35$	$2,63 \pm 0,26$
Соотношение в процентах	100	129	100	135	100	103
P	—	<0,001	—	<0,01	—	0,5

1 — группа тиреоидэктомизированных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 — группа тиреоидэктомизированных животных, которым вводилась глутаминовая кислота.

рода (29%) и неорганического фосфата (35%) митохондриями печени этих животных, находившихся в условиях с нормальным содержанием кислорода во вдыхаемом воздухе, по сравнению с таковым у тиреоидэктомированных животных, но получавших физиологический раствор (таблица 9).

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 тиреоидэктомированных крыс по сравнению с нормальными условиями экспериментов (29%).

Стимуляция дыхания митохондрий печени у тиреоидэктомированных животных под влиянием глутаминовой кислоты как в норме, так и при гипоксии (таблица 10), вероятно, имеет связь

Таблица 10

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

Количество опытов	Поглощение кислорода в мкА на 1 мг азота митохондрий в час ($M \pm m$)		Поглощение неорганического фосфора в мкА на 1 мг азота митохондрий в час ($M \pm m$)		Р:О ($M \pm m$)	
	1	2	1	2	1	2
7	22,96 ± 1,36	25,82 ± 0,60	59,76 ± 3,28	69,97 ± 2,90	2,59 ± 0,10	2,66 ± 0,08
Соотношение в процентах	100	112	100	117	100	102
P	—	<0,001	—	<0,05	—	>0,5

1 — группа тиреоидэктомированных животных, которым вводился физиологический раствор.

2 — группа тиреоидэктомированных животных, которым вводилась глутаминовая кислота.

с усилением выработки кортикостероидов и адреналина. Как отмечалось выше, глутамат стимулирует функцию гипофиза—адреналовой системы тогда, когда организм находится в состоянии стресса (Удинцев 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 проявляется 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 фосфора в АТФ на 21% (таблица 11), увеличивая тем самым синтез макроэргических фосфатных соединений.

Связь между митотической активностью и энергетическим обменом установлена рядом исследователей. Так, работали Barnett (1953), Bullough и Laurence (1956) показано, что низкое содержание кислорода, различные ингибиторы дыхания, равно как и добавка разобщителей дыхания с окислительным фосфорилированием снижают митотическую активность, а АТФ

Таблица 11

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

Количество опытов		Поглощение кислорода в мкА на 1 мг азота митохондрий в час ($M \pm m$)		Поглощение фосфора в мкА на 1 мг азота митохондрий в час ($M \pm m$)		P : O ($M \pm m$)	
1	2	1	2	1	2	1	2
11	12	$12,32 \pm 0,55$	$14,75 \pm 0,57$	$34,77 \pm 2,15$	$42,34 \pm 2,10$	$2,80 \pm 0,10$	$2,86 \pm 0,09$
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.

снижает задержку деления клеток. Включение аминокислот в белки при регенерации зависит от присутствия АТФ (Quastel и Bickis, 1959; Alfrey и Mirsky, 1957) и увеличивается параллельно со стимуляцией дыхания и синтезом 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 о влиянии глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени при воздействии таких стрессовых факторов, как гипоксия, адrenaлэктомия, 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 адаптагенах (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, адrenaлэктомированных 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 адrenaлэктомированных животных в нормальных условиях опыта глутаминовая кислота способствует нормализации нарушенных процессов окислительного фосфорилирования и повышает коэффициент $P:O$ почти до значения нормы. В условиях гипоксии у адrenaлэктомированных крыс глутаминовая кислота в меньшей степени стимулирует дыхание митохондрий по сравнению с таковым у 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.

Список научных работ, опубликованных по теме диссертации

1. О механизме повышения адаптации к гипоксическим состояниям после введения глутаминовой кислоты. (Совместно с А. М. Генкиным, Н. А. Удинцевым и М. С. Волковым). Проблемы биохимической адаптации, материалы симпозиума, М., 1965, 62—63.

2. Изменение дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях печени у интактных и адреналэктомированных животных под влиянием введения глутаминовой кислоты и кортизона в норме и при гипоксии. Материалы IV Всесоюзной конференции по физиологическим основам повышения продуктивности сельскохозяйственных животных, Боровск, 1966, книга 1, 181—182.

3. Влияние введения глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени адреналэктомированных животных в условиях гипоксии. Материалы XXIX годичной научной сессии Свердловского Государственного медицинского института. Свердловск, 1966, 8—9.

4. Влияние глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени интактных и адреналэктомированных животных в норме и при гипоксии. В сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты на организм в эксперименте и клинике. Свердловск, 1966, 15—19.

5. Влияние кортизона на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени адреналэктомированных животных в условиях гипоксии. В сб.: Биологическое действие глутаминовой кислоты на организм в эксперименте и клинике, Свердловск, 1966, 20—22.

6. Влияние глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях регенерирующей печени. (Совместно с А. М. Генкиным). Материалы конференции физиологов, биохимиков и фармакологов с участием практических врачей. Уфа, 1966, 275—276.

7. Влияние глутаминовой кислоты на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени в норме и при гипоксии (совместно с А. М. Генкиным). Булл. эксперим. биологии и медицины, 1967, 2, 50—53.