

А. С. ОГАНЕСЯН, Д. З. ГРИГОРЯН

ВЛИЯНИЕ α -КЕТОГЛУТАРОВОЙ И ЩАВЕЛЕВОУКСУСНОЙ КИСЛОТ НА ОБРАЗОВАНИЕ АММИАКА И АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ В МОЗГОВОМ СЛОЕ ПОЧЕК БЕЛЫХ КРЫС

Обмен α -кетоглутаровой и щавелевоуксусной кислот, являющихся промежуточными продуктами лимоннокислого цикла, тесно связан с обменом глутаминовой (ГК) и аспарагиновой (АК) кислот. При окислительном деаминировании последних образуются эти кетокислоты, превращающиеся путем переаминирования и реаминирования, с одной стороны, в соответствующие аминокислоты, с другой,—вовлекаясь в цикл трикарбоновых кислот, окисляются до CO_2 и H_2O . По данным Геворкян и Оганесян [2], α -кетоглутаровая (α -КГЛ) и щавелевоуксусная (ЩУК) кислоты вызывают значительные изменения как в процессах образования аммиака, так и в аминокислотном составе коркового слоя почек. Исследования Бунятына и сотр. [1] показали, что срезы коркового слоя почек белых крыс способны интенсивно деаминировать 1-ГК, 1-АК, 1-орнитин и ряд других аминокислот с образованием значительного количества свободного аммиака. Наши исследования [3] показали, что в противоположность корковому слою, мозговой слой почек почти не обладает деаминирующей способностью в отношении 1-аминокислот (ГК, АК, орнитин) и в соответствии с этим отмечается поглощение незначительного количества добавленных аминокислот из инкубируемой среды. В мозговом слое почек наблюдается сравнительно интенсивное поглощение глюкозы, сопровождающееся усилением дыхания [4, 6, 7]. Мы задались целью изучить влияние некоторых кетокислот (α -КГЛ и ЩУК) на процессы аммиакообразования и превращения 1-аминокислот в мозговом слое почек.

Опыты проводились со срезами мозгового слоя почек белых крыс, инкубированных (по 200 мг) в Кребс-Рингер-бикарбонатном буфере (2 мл), pH 7,4 при $t^\circ 37^\circ\text{C}$ в течение одного часа в аэробных (O_2 —95%, CO_2 —5%) и анаэробных (в атмосфере азота) условиях. Конечная концентрация добавленных аминокислот в инкубируемой среде составляла 5 мМ, кетокислот—0,75 мг/мл. Аминокислоты определяли методом электрофореза на бумаге, а аммиак—микродиффузионным методом по Конве.

Для сравнения приводятся данные по образованию аммиака и в срезах коркового слоя почек.

Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что в контрольном опыте кетокислоты, добавленные к срезам мозгового слоя, в незначительной мере подавляют образование аммиака из эндогенных ресурсов (α -КГЛ—

Таблица 1

Влияние α -КГЛ и ЩУК на образование аммиака из 1-аминокислот
в срезах мозгового и коркового слоев почек белых крыс
(средние данные 4-х опытов)

Условия опыта	Контроль	Прирост аммиака, мкмоль/г свежей ткани/час			
		ГК	АК	орнитин	глутамин
Мозговой слой					
Контроль	4,6 \pm 0,3	0,9 \pm 0,2	0,58 \pm 0,06	2,4 \pm 0,4	24,3 \pm 2,0
α -КГЛ	4,1 \pm 0,3	0,23 \pm 0,1	0	2,3 \pm 0,3	24,1 \pm 2,3
ЩУК	4,4 \pm 0,4	0,18 \pm 0,3	0	2,0 \pm 0,3	23,8 \pm 2,1
Корковый слой					
Контроль	6,8 \pm 0,5	6,4 \pm 0,5	10,0 \pm 0,9	12,0 \pm 1,1	—
α -КГЛ	4,0 \pm 0,3	4,3 \pm 0,4	6,8 \pm 0,6	10,3 \pm 1,2	—
ЩУК	4,4 \pm 0,2	5,0 \pm 0,3	7,9 \pm 1,0	10,4 \pm 0,9	—

0,5; ЩУК—0,2 мкмоль), между тем как в корковом слое эти кетокислоты значительно угнетают образование аммиака (α -КГЛ—2,8; ЩУК—2,4 мкмоль). В срезах мозгового слоя добавленные ГК и АК почти не дают выхода свободного аммиака и лишь в присутствии 1-орнитина наблюдается небольшой прирост его (2,4 мкмоль). Глутамин, добавленный к срезам мозгового слоя почек, дает значительный выход свободного аммиака. В мозговом слое кетокислоты подавляют образование аммиака из 1-аминокислот в незначительной мере, в то время как в корковом слое α -КГЛ и ЩУК проявляют значительный подавляющий эффект на аммиакообразование из 1-аминокислот. Подавляющий эффект этих кетокислот в корковом слое намного превышает таковой в мозговом слое. Как α -КГЛ, так и ЩУК не подавляют образование аммиака из глутамина—основного источника аммиака в мозговом слое почек, в то время как в корковом слое добавление ЩУК, и особенно α -КГЛ, вызывают значительное подавление этого процесса, что в наших исследованиях совпадает с данными Геворкян и Оганесян [2].

Как видно из табл. 2, кетокислоты, добавленные к инкубируемой среде как в аэробных, так и в анаэробных условиях вызывают определенные сдвиги в аминокислотном составе мозгового слоя почек. α -КГЛ, добавленный к срезам мозгового слоя почек, в аэробных условиях приводит к повышению количества ГК и некоторому понижению содержания АК и орнитина. Добавление же ЩУК в тех же условиях вызывает увеличение количества АК и понижение ГК. При добавлении к срезам мозгового слоя ГК наблюдается некоторое увеличение содержания АК, ГК вместе с α -КГЛ—имеет место дальнейшее увеличение количества ГК и понижение АК и орнитина. В присутствии ГК и ЩУК наблюдается значительное понижение уровня ГК и увеличение количества АК. Добавление только АК приводит к небольшому увеличению количества ГК по сравнению с инкубированным контролем, а вместе с α -КГЛ вызывает

значительное увеличение количества ГК и уменьшение АК, а АК со ЩУК приводит к дальнейшему увеличению количества АК и понижению ГК. Согласно данным Геворкян и Оганесяна [2], добавление АК вместе с α -КГЛ вызывает заметное понижение АК и повышение ГК. Орнитин, добавленный к срезам мозгового слоя почек, приводит к некоторому повышению содержания ГК, а вместе с α -КГЛ вызывает значительное повышение количества ГК и понижение содержания самого орнитина и АК. При прибавлении орнитина вместе со ЩУК наблюдается выраженное увеличение количества АК и понижение содержания орнитина.

Таблица 2
Влияние α -КГЛ и ЩУК на превращение l-аминокислот в мозговом слое почек белых крыс (мкмоль/г свежей ткани/час) (средние данные 4 опытов)

Условия опыта	Аэробные условия			Анаэробные условия		
	ГК	АК	орнитин*	ГК	АК	орнитин
Добавлен к инкубируемой среде	3,94±0,06	4,52±0,3	4,17±0,2	—	—	7,5 ±0,08
Инкубированный контроль	4,9 ±0,2	2,48±0,2	2,73±0,14	4,72±0,1	2,37±0,3	2,58±0,3
КГЛ	6,46±0,1	1,8 ±0,12	2,47±0,3	9,18±0,6	1,05±0,2	1,52±0,2
ЩУК	3,6 ±0,2	3,31±0,1	2,58±0,3	3,37±0,3	5,94±0,7	1,89±0,3
ГК	8,76±0,3	3,8 ±0,2	2,5 ±0,2	—	—	—
ГК+КГЛ	9,5 ±0,2	2,9 ±0,06	2,08±0,09	—	—	—
ГК+ЩУК	6,26±0,3	6,92±0,1	2,5 ±0,16	—	—	—
АК	5,52±0,3	7,5 ±0,2	2,46±0,3	—	—	—
АК+КГЛ	8,4 ±0,2	5,0 ±0,15	2,58±0,2	—	—	—
АК+ЩУК	4,7 ±0,3	8,6 ±0,5	2,58±0,2	—	—	—
Орнитин	5,52±0,4	2,59±0,1	8,3 ±0,5	4,9 ±0,4	2,5 ±0,2	10,6±0,5
Орнитин+КГЛ	8,84±0,6	1,1 ±0,08	6,75±0,68	9,65±0,3	1,8 ±0,3	6,06±0,5
Орнитин+ЩУК	5,64±0,3	4,14±0,6	7,42±0,4	3,8 ±0,2	4,5 ±0,3	9,0 ±1,0

Количество эндогенных аминокислот составляло: ГК—4,4±0,5, АК—1,9±0,2 Орнитин—1,3±0,1.

* Имеется в виду группа диаминокислот (лизин, аргинин, орнитин, гистидин).

Опыты, проведенные в анаэробных условиях (табл. 2), показали, что добавление α -КГЛ приводит к более выраженному возрастанию ГК, уменьшению АК и орнитина, чем в аэробных условиях. В этих условиях ЩУК также вызывает большее увеличение АК и понижение ГК и орнитина по сравнению с аэробными условиями. Добавление орнитина в анаэробных условиях к срезам мозгового слоя почек не вызывает особых изменений в содержании ГК, АК. Однако при совмещении его с α -КГЛ наблюдается увеличение количества ГК и уменьшение АК, а вместе со ЩУК отмечается значительное повышение содержания АК, количества ГК и орнитина при этом несколько понижаются.

Приведенные данные показывают, что в срезах мозгового слоя почек процессы деаминации l-аминокислот по сравнению с корковым слоем протекают очень слабо, что связано с низкой активностью ферментов, осуществляющих деаминацию этих аминокислот в мозговом слое почек. Кетокислоты в этом слое проявляют незначительный подав-

ляющий эффект на аммиакообразование как из эндогенных источников, так и из добавленных аминокислот (орнитина) и глутамина, в то время как в корковом слое отмечается выраженное торможение этого процесса. Наши данные в отношении коркового слоя почек совпадают с результатами исследований Геворкян и Оганесяна. По мнению этих авторов, подавляющий эффект α -КГЛ и ЩУК на образование аммиака из l-аминокислот в корковом слое почек объясняется ингибированием активности ферментов, осуществляющих деаминирование l-аминокислот. Так как в мозговом слое почек почти отсутствуют эти ферменты, здесь кетокислоты не проявляют подавляющего эффекта. Подавление образования аммиака в присутствии α -КГЛ и ЩУК в коре почек невозможно объяснить реаминированием этих кетокислот, так как в почечной ткани эти процессы протекают с очень низкой интенсивностью, между тем как их подавляющий эффект проявляется в выраженной форме. Подавляющий эффект α -КГЛ и ЩУК, являющихся продуктами реакции деаминирования ГК и АК в почечной ткани, связан с их аллостерическим действием на процессы окислительного деаминирования.

Инкубация срезов мозгового слоя почек с α -КГЛ приводит к увеличению содержания ГК, а вместе со ЩУК вызывает возрастание количества АК, при этом в первом случае уменьшается количество АК, во втором—ГК. Эти сдвиги в содержании аминокислот объясняются переаминированием добавленных кетокислот с эндогенными l-аминокислотами, в результате чего наблюдается увеличение содержания одних и уменьшение других аминокислот. В корковом же слое, как показали исследования Геворкян и Оганесяна [2], как α -КГЛ, так и ЩУК значительно повышают содержание ГК (ЩУК в небольшой мере повышает также содержание АК). Повышение содержания ГК при добавлении ЩУК объясняется окислением ее по лимоннокислому циклу и превращением в α -КГЛ, которая способствует увеличению количества ГК.

Интересные результаты были получены также с орнитином, который, переаминируясь с α -КГЛ, повышает содержание ГК, как это наблюдали и др. [5]. Вместе с этим наши результаты показывают, что орнитин может переаминироваться со ЩУК, при этом повышается количество АК и понижается содержание орнитина.

Полученные данные показывают, что в корковом слое почек преобладает окислительное деаминирование l-аминокислот, а в мозговом— процессы их синтеза (переаминирование, реаминирование). Установлено также, что в корковом слое почек ЩУК повышает содержание ГК, а в мозговом—АК, что объясняется низкой интенсивностью процессов цикла трикарбоновых кислот в мозговом слое по сравнению с корковым.

Сравнение результатов опытов, проведенных в аэробных и анаэробных условиях, показывает, что часть добавленных кетокислот утилизируется в аэробных условиях, в результате чего в этих условиях прирост соответствующих аминокислот ниже, чем в анаэробных.

Ա. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Գ. Զ. ԳՐԻԳՐՅԱՆ

ԱԼՅԱ-ԿԵՏՈԳԼՅՈՒՏԱՐԱԹԹՎԻ ԵՎ ՕՔՍԱԼԱ-ՔԱՅԱԽԱԹԹՎԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՍՊԻՏԱԿ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԵՐԻԿԱՄՆԵՐԻ ՄԻՋՈՒԿԱՅԻՆ ՄԱՍՈՒՄ ԱՄԻԱԿԻ
ԱՌԱՋԱՅՄԱՆ ԵՎ ԱՄԻՆԱԹՎԱՅԻՆ ԿԱԶՄԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ երիկամների միջուկային շերտի կտրվածքների վրա գլյուտամինաթթվի և ասպարագինաթթվի ավելացումը չի բերում ազատ ամիակի ավելացմանը, իսկ 1-օրնիտինից ստացվում է որոշակի քանակով ամիակ: Երիկամի միջուկային շերտի վրա ավելացված կետոթթունները (α -կետոգլուտարաթթուն, օքսալաքացախաթթուն-(ճնշում են ամիակի առաջացումը 1-օրնիտինից: Միջուկային շերտի կտրվածքներում ավելացրած գլյուտամինից ստացվում է մեծ քանակով ամիակ, ըստ որում վերը նշված կետոթթունները չեն ճնշում ամիակի առաջացումը նրանցից: Երիկամի կեղևային շերտի կտրվածքների վրա ավելացրած 1-ամինաթթուները (գլյուտամինաթթու, ասպարագինաթթու, օրնիտին) ենթարկվում են ինտենսիվ դեամինացման: որի հետևանքով ազատ ամիակի քանակությունն զգալիորեն մեծանում է: Այս հյուսվածքի կտրվածքներում ավելացրած կետոթթունները խիստ ճնշում են ազատ ամիակի առաջացումը 1-ամինաթթուներից: Իրված փորձերի արդյունքները ցույց են տվել, որ անաէրոբ պայմաններում միջուկային շերտի կտրվածքների վրա ավելացրած կետոթթունները բերում են գլյուտամինաթթվի և ասպարագինաթթվի քանակների համեմատաբար ավելի բարձրացմանը, քան աէրոբ պայմաններում: Անաէրոբ պայմաններում, միջուկային շերտի կտրվածքների վրա ավելացրած օրնիտինը գրեթե չի բերում գլյուտամինաթթվի և ասպարագինաթթվի քանակների փոփոխմանը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бунятян Г. Ж., Оганесян А. С., Геворкян Ж. С. ДАН СССР, т. 177, 951, 1967.
2. Геворкян Ж. С., Оганесян А. С. Биологический журнал Армении, XXII, 2, 16, 1969.
3. Григорян Д. З. Материалы II-ой конференции молодых ученых Армении, Ереван, 1969.
4. Säpek K., Kleinceller A. A. Excerpta Med., 29, 34, 1960.
5. Katunuma N., Okada M., Matsuura T., Otsuka J. J. Biochem. (Japan) 57, 3445, 1965.
6. Teng C. Y. Arch. Biochem. Biophys. 57, 66, 1955.
7. Ulrich K. J., Kramer K., Boyland J. W, Progr. in Cardiovascular disease 3, 395, 1961.