

К. А. ЧОБАНЯН, А. С. ОГАНЕСЯН

НЕКОТОРЫЕ СТОРОНЫ АМИНОКИСЛОТНОГО ОБМЕНА В КОРКОВОМ СЛОЕ ПОЧЕК БЕЛЫХ КРЫС В ОНТОГЕНЕЗЕ

Наши предыдущие исследования показали, что срезы коркового слоя почек зрелых крыс способны интенсивно деаминировать ряд L-аминокислот (глутаминовая, аспарагиновая, орнитин, аргинин, пролин и др.) с образованием большого количества свободного аммиака [2]. Было также показано, что деаминирующая способность почечной ткани в отношении различных L-аминокислот проявляется в разное время после рождения животного. У новорожденных деаминированию подвергается только L-аспарагиновая кислота, начиная с 11—12-го дня L-орнитин, а с 15—16-го дня постнатальной жизни и L-глутаминовая кислота [4]. Установлено, что при инкубировании почечной ткани (срезы) зрелых крыс отмечается значительная утилизация как эндогенных, так и добавленных аминокислот. Добавленные кетокислоты (α -кетоглутаровая— α -КГЛ; щавелевоуксусная—ЩУК) вызывают у них значительные сдвиги в содержании аминокислот [3].

В развитие наших прежних исследований мы задались целью изучить динамику превращений некоторых эндогенных и добавленных аминокислот, а также влияние α -КГЛ и ЩУК на эти процессы в корковом слое почек белых крыс в онтогенезе.

С этой целью срезы почечной ткани (200 мг) инкубировали в Кребс-Рингер-бикарбонатном буфере (конечный объем 2 мл), рН 7,4, t 37°C, в течение одного часа. На каждую пробу добавляли по 16 мкмоль аминокислот, по 10 мкмоль кетокислот. Содержание аминокислот определяли методом электрофореза на бумаге. Аммиак определяли микродиффузионным методом Конве.

Как видно из приведенных в табл. 1 данных, при инкубации срезов определенное количество эндогенной глутаминовой кислоты из клеток выходит в инкубационную среду, что не наблюдается в отношении аспарагиновой кислоты и орнитина. С возрастом эта величина постепенно уменьшается и к зрелости (3-месячные) составляет приблизительно 1/6 часть того количества, которое наблюдается у новорожденных крыс. В ходе часовой инкубации в аминокислотном составе почечной ткани происходят значительные сдвиги, носящие неодинаковый характер у животных разного возраста. До 16-дневного возраста при инкубации отмечается некоторое увеличение количества эндогенной глутаминовой кислоты. Начиная с 16-го дня после рождения наблюдается заметная утилизация этой аминокислоты, как эндогенной, так и добавленной, постепенно усугубляющаяся к зрелому возрасту (табл. 2). Во всех воз-

Таблица 1

Выход аминокислот из срезов коркового слоя почек в инкубационную среду в ходе часовой инкубации, мкмоль/г ткани/час (средние данные 5 опытов)

| Возраст животных | Инкубационная среда | | |
|------------------|----------------------|-----------------------|---------|
| | глутаминовая кислота | аспарагиновая кислота | орнитин |
| Новорожденные | 1,88 | 0 | 0 |
| 12-дневные | 1,7 | 0 | 0 |
| 16-дневные | 1,37 | 0 | 0 |
| 30-дневные | 0,96 | 0 | 0 |
| 60-дневные | 0,66 | 0 | 0 |
| 90-дневные | 0,34 | 0 | 0 |

растных группах определенная часть утилизированной глутаминовой кислоты расходуется в процессе синтеза глутамина, а начиная с 16-дневного возраста эта аминокислота подвергается также интенсивному деаминации. Незначительное количество ее превращается в аспараги-

Таблица 2

Превращения эндогенной и добавленной глутаминовой кислоты в срезах коркового слоя почек белых крыс различного возраста, мкмоль/г ткани/час (средние данные 5 опытов)

| Возраст животного | Контроль | | После инкубации | | | | | |
|-------------------|--------------|---|-----------------|---------------------------------------|-----------------------|---------|----------|--------|
| | до инкубации | фиксированная проба после добавления глутаминовой кислоты | контроль | после добавления глутаминовой кислоты | | | | |
| | | | | глутаминовая кислота | аспарагиновая кислота | орнитин | глутамин | аммиак |
| Новорожденные | 5,52 | 86,5 | 6,6 | 71,8 | 0,9 | 0 | 4,4 | 0 |
| 12-дневные | 5,85 | 85,0 | 6,6 | 70,4 | 0,9 | 0 | 5,0 | 0 |
| 16-дневные | 6,96 | 84,5 | 5,5 | 71,1 | 1,2 | 0 | 6,3 | 1,5 |
| 30-дневные | 7,33 | 87,2 | 5,07 | 68,4 | 1,2 | 0 | 6,6 | 4,5 |
| 60-дневные | 7,6 | 86,6 | 4,3 | 65,4 | 1,0 | 0 | 5,2 | 6,3 |
| 90-дневные | 7,6 | 87,0 | 3,8 | 66,5 | 1,1 | 0 | 5,2 | 6,4 |

новую кислоту. Некоторая часть глутаминовой кислоты в ходе инкубации расходуется в других процессах. Это отмечается также в отношении аспарагиновой кислоты и орнитина.

С 1-го же дня постнатальной жизни отмечается заметная утилизация как эндогенной, так и добавленной аспарагиновой кислоты, которая довольно интенсивно протекает до зрелого возраста (табл. 3). Добавленная аспарагиновая кислота частично подвергается деаминации с образованием свободного аммиака, а другая часть ее превращается в глутаминовую кислоту и глутамин, повышая содержание последних как в срезах, так и в инкубационной среде. Следует отметить, что повышение

Таблица 3

Превращения эндогенной и добавленной аспарагиновой кислоты в срезах коркового слоя почек белых крыс различного возраста, мкмоль/г ткани/час (средние данные 5 опытов)

| Возраст животного | Контроль | | После инкубации | | | | | |
|-------------------|--------------|--|-----------------|--|-----------------------|---------|----------|--------|
| | до инкубации | фиксированная проба после добавления аспарагиновой кислоты | контроль | после добавления аспарагиновой кислоты | | | | |
| | | | | глутаминовая кислота | аспарагиновая кислота | орнитин | глутамин | аммиак |
| Новорожденные | 1.45 | 78.1 | 1.05 | 2.5 | 52.2 | 0 | 3.9 | 4.74 |
| 12-дневные | 1.65 | 76.2 | 1.05 | 2.2 | 53.5 | 0 | — | 8.0 |
| 16-дневные | 1.8 | 78.5 | 1.05 | 3.8 | 51.4 | 0 | 4.7 | 8.6 |
| 30-дневные | 1.86 | 76.5 | 1.0 | 5.6 | 48.0 | 0 | 5.4 | 11.9 |
| 60-дневные | 2.11 | 78.0 | 1.0 | 7.7 | 47.5 | 0 | — | 12.3 |
| 90-дневные | 2.57 | 77.4 | 0.7 | 8.9 | 42.0 | 0 | 6.8 | 10.1 |

содержания глутаминовой кислоты и глутамина в присутствии аспарагиновой более выражено у зрелых животных. В присутствии глутаминовой и аспарагиновой кислот содержание орнитина в срезах почек поддерживается на сравнительно высоком уровне. Нужно отметить, что среди всех изученных нами аминокислот аспарагиновая утилизируется более интенсивно.

В ходе инкубации отмечается некоторое увеличение количества орнитина* до 16-дневного возраста, а затем к зрелому возрасту наблюдается его заметная утилизация (табл. 4).

Таблица 4

Превращения эндогенного и добавленного орнитина в срезах коркового слоя почек белых крыс различного возраста, мкмоль/г ткани/час (средние данные 5 опытов)

| Возраст животного | Контроль | | После инкубации | | | | | |
|-------------------|--------------|---|-----------------|---------------------------|-----------------------|---------|----------|--------|
| | до инкубации | фиксированная проба после добавления орнитина | контроль | после добавления орнитина | | | | |
| | | | | глутаминовая кислота | аспарагиновая кислота | орнитин | глутамин | аммиак |
| Новорожденные | 1.08 | 82.8 | 1.7 | 0 | 0 | 76.5 | 0 | 0 |
| 12-дневные | 1.36 | 83.1 | 2.3 | 0.5 | 0 | 72.0 | — | 3.1 |
| 16-дневные | 1.6 | 82.1 | 1.9 | 1.7 | 0 | 74.7 | 0.3 | 4.2 |
| 30-дневные | 2.0 | 83.2 | 1.6 | 3.4 | 0.3 | 64.0 | 0.8 | 5.3 |
| 60-дневные | 2.5 | 82.5 | 1.4 | 4.7 | 0.5 | 67.5 | — | 10.9 |
| 90-дневные | 2.0 | 83.8 | 1.4 | 6.0 | 1.1 | 65.4 | 1.9 | 12.6 |

* Имеются в виду диаминокислоты — орнитин, лизин, аргинин, которые при электрофорезе определяются вместе.

С 12-дневного возраста наблюдается деаминирование орнитина, причем эта аминокислота дает больше аммиака, чем аспарат и глутамат. Процесс аммиакообразования постепенно усиливается к зрелому возрасту. Другая часть утилизированного орнитина превращается в глутаминовую и аспарагиновую кислоты. Увеличение содержания глутаминовой и аспарагиновой кислот в присутствии орнитина усиливается с возрастом, начиная с 16-го, особенно 30-го, дня после рождения, при этом некоторое количество образовавшейся глутаминовой кислоты выходит в инкубационную среду. Нужно отметить, что в присутствии орнитина образуется значительно меньше глутамина, чем при глутаминовой и аспарагиновой кислотах.

Таблица 5

Влияние α -кетоглутаровой и щавелевоуксусной кислот на аминокислотный состав коркового слоя почек белых крыс в онтогенезе, мкмоль/г ткани/час (средние данные 5 опытов)

| Возраст животных | Контроль после инкубации | | | α -кетоглутаровая кислота | | | Щавелевоуксусная кислота | | |
|------------------|--------------------------|-----------------------|---------|----------------------------------|-----------------------|---------|--------------------------|-----------------------|---------|
| | глутаминовая кислота | аспарагиновая кислота | орнитин | глутаминовая кислота | аспарагиновая кислота | орнитин | глутаминовая кислота | аспарагиновая кислота | орнитин |
| Новорожденные | 6,66 | 1,1 | 1,13 | 7,74 | 0,83 | 1,02 | 4,29 | 3,47 | 1,12 |
| 12-дневные | 6,64 | 0,87 | 2,28 | 7,52 | 0,57 | 1,29 | 3,73 | 3,15 | 2,06 |
| 16-дневные | 5,57 | 0,89 | 1,88 | 7,3 | 0,6 | 1,49 | 3,23 | 2,85 | 1,77 |
| 30-дневные | 5,07 | 0,74 | 1,61 | 6,7 | 0,45 | 1,36 | 3,96 | 2,33 | 1,4 |
| 60-дневные | 4,46 | 0,59 | 1,44 | 7,34 | 0,38 | 1,1 | 5,9 | 1,8 | 1,2 |
| 90-дневные | 3,8 | 0,54 | 1,36 | 7,9 | 0,36 | 1,05 | 7,24 | 1,73 | 1,08 |

В табл. 5 приведены результаты опытов по влиянию α -КГЛ и ЩУК на аминокислотный состав коркового слоя почек. Как видно из этих данных, добавление α -КГЛ к срезам почек приводит к значительному повышению уровня глутаминовой кислоты. Одновременно отмечается снижение аспарагиновой кислоты и орнитина. Эти изменения в аминокислотном составе почечной ткани связаны с переаминированием аминокислот с α -КГЛ, в том числе и аспарагиновой кислоты и орнитина, что соответствующим образом отражается на их содержании (повышение глутаминовой кислоты и уменьшение аспарагиновой кислоты и орнитина). Следует отметить, что процессы переаминирования более интенсивно протекают у зрелых крыс по сравнению с незрелыми.

Более интересные результаты были получены в отношении ЩУК. Она вызывает увеличение аспарагиновой кислоты у всех животных. Однако этот процесс неодинаково выражен у различных возрастных групп. Прирост аспарагиновой кислоты в присутствии ЩУК более выражен у молодых крыс, чем у зрелых, т. е. в присутствии этой кетокислоты с возрастом наблюдается понижение количества образовавшейся аспарагино-

вой кислоты. С другой стороны, в этих условиях до 30-дневного возраста отмечается понижение содержания глутаминовой кислоты, а после этого периода ЩУК вызывает значительное повышение его (и в срезах, и в инкубационной среде). Что касается орнитина, то следует отметить, что в присутствии ЩУК содержание этой аминокислоты до 30-дневного возраста почти не изменяется, после чего отмечается снижение, продолжающееся до зрелого возраста.

Приведенные данные показывают, что некоторые L-аминокислоты в корковом слое почек белых крыс подвергаются интенсивным метаболическим превращениям, которые в зависимости от возраста животных носят разный характер. Был подтвержден установленный нами ранее факт о том, что деаминирование глутаминовой, аспарагиновой кислот и орнитина в корковом слое почек начинается в разное время после рождения животного. Это показывает, что упомянутые аминокислоты в почках деаминируются не единым механизмом, а различными ферментативными системами, которые формируются и начинают функционировать не одновременно. В соответствии с этим интенсивное поглощение упомянутых аминокислот из инкубационной среды и их утилизация наблюдаются в разные периоды постнатальной жизни. В ходе инкубации отмечается превращение глутаминовой и аспарагиновой кислот. Этот процесс в более выраженной форме проявляется с 30-дневного возраста, когда интенсивность процессов лимоннокислого цикла и трансаминирования в почечной ткани значительно усиливается (это особенно касается процессов превращения ЩУК и аспарагиновой кислоты в глутаминовую). После деаминирования аминокислот образовавшиеся кетокислоты вовлекаются в лимоннокислый цикл и подвергаются окислению, усиливая тканевое дыхание. Увеличение количества глутаминовой кислоты в присутствии орнитина надо объяснить действием фермента орнитин- α -КГЛ-трансаминазы. Эти процессы более интенсивно протекают после 30-дневного возраста, когда наблюдается сравнительно усиленное деаминирование глутаминовой кислоты и значительное повышение активности ферментов лимоннокислого цикла.

Как видно, орнитин- α -КГЛ-трансаминаза начинает функционировать сравнительно раньше, чем фермент, деаминирующий глутаминовую кислоту, так как при добавлении α -КГЛ к срезам почек наблюдается понижение содержания орнитина и у новорожденных, и особенно у 12-дневных животных; а деаминирование глутаминовой кислоты наблюдается с 15—16-дневного возраста. Процесс образования глутаминовой и аспарагиновой кислот из орнитина с возрастом усиливается, что, очевидно, связано, с одной стороны, с усилением процессов, генерирующих α -КГЛ и ЩУК (цикл трикарбоновых кислот), а с другой—повышением активности орнитин- α -КГЛ-трансаминазы и орнитин-ЩУК-трансаминазы.

Наши опыты показали, что в почечной ткани в присутствии орнитина и ЩУК наблюдается значительное увеличение аспарагиновой кисло-

ты и понижение количества орнитина. По-видимому, орнитин непосредственно трансаминируется и с ЩУК. Этот вопрос подлежит более подробному изучению.

Добавленная кетоглутаровая кислота с первого же дня вызывает значительное повышение глутаминовой кислоты и понижение аспарагиновой кислоты и орнитина, между тем как ЩУК с первого дня постнатальной жизни вызывает значительное повышение содержания аспарагиновой кислоты, а с 30-дневного возраста, наряду с аспарагиновой кислотой, повышается и количество глутаминовой. Количество образовавшейся аспарагиновой кислоты (как в почечной ткани, так и в инкубационной среде) в присутствии ЩУК с возрастом постепенно уменьшается. Интересно отметить, что до месячного возраста в присутствии этой кетокислоты наблюдается понижение количества глутаминовой кислоты, а после этого, наоборот, повышение его. Очевидно, это связано с тем, что до месячного возраста процессы лимоннокислого цикла в коре почек протекают слабо, поэтому ЩУК, переаминируясь с глутаминовой и другими аминокислотами, превращается в аспарагиновую кислоту; затем в результате усиления процессов лимоннокислого цикла добавленная ЩУК переходит в α -КГЛ, которая путем переаминирования и отчасти реаминирования превращается в глутаминовую кислоту.

Следует отметить еще одну особенность почечной ткани молодых животных. При инкубировании срезов почек всех возрастных групп животных определенное количество глутаминовой кислоты из клеток выходит в инкубационную среду, что особенно выражено у новорожденных. С возрастом выход этой аминокислоты в инкубационную среду резко сокращается и у зрелых животных составляет незначительную величину.

Надо полагать, что механизмы, регулирующие постоянство содержания глутаминовой кислоты (и других аминокислот), в почечных клетках с возрастом совершенствуются. По нашим, а также по данным других авторов, мембранная аденозинтрифосфатаза (АТФ-аза) принимает активное участие в деятельности упомянутых механизмов. Активность этого фермента в почках молодых животных значительно ниже по сравнению с таковой у взрослых [5]. Не исключено, что одной из причин выхода значительного количества глутаминовой кислоты из клеток в инкубационную среду у молодых животных является низкая активность мембранной АТФ-азы почечных клеток. При инкубации срезов в инкубационной среде не обнаруживаются аспарагиновая кислота и орнитин, что, по-видимому, обусловлено их низким содержанием в почечной ткани, так как при усилении образования аспарагиновой кислоты (при добавлении ЩУК) значительная часть ее выходит из клеток в окружающую среду.

Исследования Арутюнян и др. [1] показали, что после инкубации срезов почек других животных (кролики, морские свинки, крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, куры, лягушки) наряду с глутаминовой кислотой в инкубационной среде в значительном количестве оказываются также L-орнитин и L-аспарагиновая кислота. Вопрос о регуляции транспор-

та аминокислот в почечной ткани различных видов животных подлежит более подробному изучению.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 15.vi 1971 г.

Կ. Ա. ՉՈՐԱՆՅԱՆ, Ա. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

ԱՄԻՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇ ԿՈՂՄԵՐԸ ՍՊԻՏԱԿ ԱԻՆԵՏՆԵՐԻ ԵՐԻԿԱՄՆԵՐԻ ԿԵՂԵՎԱՅԻՆ ՇԵՐՏՈՒՄ ՕՆՏՈԳԵՆԵԶԻ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու մ

Փորձերը դրվել են տարբեր հասակի սպիտակ առնետների երիկամների կեղևային շերտի կտրվածքների վրա: Ստացված արդյունքները ցույց են տվել, որ հետծննդյան շրջանում տարբեր ամինաթթուների (գլյուտամինաթթու, ասպարագինաթթու, օրնիտին) յուրացումը երիկամներում սկսվում է ոչ միաժամանակ:

Ծննդյան առաջին իսկ օրվանից նկատվում է, որ էնդոգեն և ավելացված ասպարագինաթթուն զգալիորեն կլանվում և յուրացվում է երիկամի կեղևի կտրվածքների կողմից, միաժամանակ ազատ ամիակի քանակը մեծանում է: Այդ երևույթը L-օրնիտինի նկատմամբ սկսվում է 11—12-րդ, իսկ L-գլյուտամինաթթվի նկատմամբ՝ 15—16 օրական հասակից: Ամինաթթուների յուրացումը փորձնական կենդանիների հասակին զուգընթաց ուժեղանում է մինչև նրանց հասունացումը (3-ամսական հասակը):

Ինկուբացիայի ընթացքում երիկամի բջիջներից որոշ քանակությամբ գլյուտամինաթթու դուրս է գալիս ինկուբացիոն միջավայր, որը նորածինների մոտ անհամեմատ ավելի շատ է, քան մեծահասակների մոտ: Այդ երևույթը բացատրվում է ամինաթթուների տրանսպորտը կանոնավորող մեխանիզմի զարգացմամբ և կատարելագործմամբ (հասակին զուգընթաց), որի բաղկացուցիչ մասերից մեկը բջիջների թաղանթային ազենոզինտրիֆոսֆատազան է, որի ակտիվությունը նորածինների մոտ անհամեմատ ավելի ցածր է, քան մեծահասակ կենդանիների մոտ:

Երիկամների կտրվածքների վրա ավելացված α-կետոգլյուտարաթթուն բոլոր հասակներում առաջացնում է L-գլյուտամինաթթվի քանակի ավելացում, մինչդեռ օքսալա-բացախաթթվի ներկայությամբ, մինչև 30 օրական հասակը, նկատվում է ասպարագինաթթվի ավելացում, իսկ այդ ժամանակից հետո ասպարագինաթթվի հետ միասին, նկատվում է նաև գլյուտամինաթթվի քանակի զգալի բարձրացում: Այս երևույթը ավելի արտահայտված ձևով նկատվում է հասուն կենդանիների մոտ: Ենթադրվում է, որ մինչև 30 օրական հասակը առնետների երիկամներում լիմոնաթթվային ցիկլի պրոցեսները թույլ են ընթանում, որի պատճառով էլ օքսալա-բացախաթթուն այլ ամինաթթուներից վերցնելով ամին խումբը վերածվում է ասպարագինաթթվի, իսկ այդ հասակից հետո նշված պրոցեսների ընթացքի ուժեղացման հետևանքով օքսալա-բացախաթթուն փոխարկվում է α-կետոգլյուտարաթթվի, իսկ վերջինս տրանսամինացման միջոցով վերածվում է գլյուտամինաթթվի:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арутюнян Л. А., Оганесян А. С. и Геворкян Ж. С. Биологический журнал Армении, XXIII, 10, 1970.
2. Бунятян Г. Х., Оганесян А. С. и Геворкян Ж. С. ДАН СССР, 177, 951, 1967.
3. Геворкян Ж. С. Автореферат канд. дисс., Ереван, 1969.
4. Оганесян А. С. и Чобанян К. А. ДАН АрмССР, 49, 269, 1969.
5. Оганесян А. С. и Чобанян К. А. Журнал экспериментальной и клинической медицины, 6, 1971.