

Ж. С. ГЕВОРКЯН. А. С. ОГАНЕСЯН

ВЛИЯНИЕ СЫВОРОТКИ КРОВИ НА ОБРАЗОВАНИЕ АММИАКА ИЗ ГЛЮТАМИНА В КОРКОВОМ СЛОЕ ПОЧЕК БЕЛЫХ КРЫС

Сывороточный фактор, подавляющий деаминирование L-аминокислот, не оказывает влияния на деаминирование глютамина в корковом слое почек белых крыс. Установлено, что это вещество содержится также в печеночной и почечной тканях и локализовано в гиалоплазме клеток.

Наши прежние исследования [1] показали, что в плазме крови, в печеночной и почечной тканях содержится неизвестной природы вещество (или вещества), которое оказывает регулирующее воздействие на деаминирование природных аминокислот и образование аммиака из них в почечной ткани. Было показано, что это вещество в определенной степени тормозит деаминирование ряда L-аминокислот (глютаминовой, аспарагиновой, орнитина), являющихся хорошими источниками аммиака в почках, и, вероятно, играет немаловажную роль в сохранении их постоянного уровня в организме.

Главным источником аммиака мочи является глютамин. В связи с этим представляет большой интерес выяснение влияния сыворотки крови на процессы синтеза глютамина и образования аммиака из него, а также на содержание амидных групп белков почечной ткани.

Материал и методика. Опыты были проведены со срезами и гомогенатами коркового слоя почек белых крыс по описанной ранее нами методике [1]. В опытах в качестве инкубационной среды использовалась депротеинизированная сыворотка крови этих же животных, которая приготавливалась путем кипячения натуральной сыворотки в водяной бане в течение 10 мин. Глютамин добавлялся на каждую пробу по 16 мкмоль. Содержание амидных групп белков определяли в трихлоруксусных осадках, освобожденных от липидов.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований (табл. 1) показывают, что при инкубации срезов коркового слоя почек в среде сыворотки крови белых крыс (а также и человека) наблюдается заметное подавление образования аммиака из добавленного глютамина по сравнению с результатами, полученными при инкубации срезов в Кребс-Рингер-бикарбонатном буфере (рН 7,4). Однако, когда инкубируется гомогенат коркового слоя почек с глютамином, ингибирующий эффект сыворотки крови (как крысиной, так и человеческой) на образование аммиака не проявляется. Далее изучали процесс синтеза глютамина в

Таблица 1

Влияние сыворотки крови на образование аммиака из глутамина в корковом слое почек, мкМ/г ткани/час

Условия опыта	Срезы	Гомогенат
Буфер	26,3±2,3	21,4±2,7
Сыворотка крысиная	20,6±1,7	21,0±1,8
Буфер	25,5±2,4	21,4±2,1
Сыворотка человека	21,8±2,1	21,2±1,6

Средние данные 7 опытов.

срезах почек в присутствии сыворотки крови. Результаты этих опытов показали (табл. 2), что при инкубации срезов почек в сыворотке крови синтез глутамина в присутствии глутаминовой и аспарагиновой кислот

Таблица 2

Влияние сыворотки крови на образование глутамина в срезах почек в присутствии некоторых L-аминокислот, аммиак глутамина мкМ/г ткани/час

Условия опыта	Глутаминовая кислота	Аспарагиновая кислота	Орнитин
Буфер	6,2±0,8	8,6±1,2	3,6±0,5
Сыворотка	3,2±0,5	3,6±0,4	3,6±0,4

Средние данные 6 опытов.

несколько подавляется по сравнению с результатами контрольных опытов, проведенных в Кребс-Рингер-бикарбонатном буфере. Установлено, что при инкубации срезов коркового слоя почек в буфере в присутствии аспарагиновой кислоты по сравнению с глутаминовой образуется больше глутамина. Это явление нами наблюдалось неоднократно, и мы полагаем, что в процессах синтеза глутамина (образование амидной группы), помимо свободного аммиака, принимает участие также и аминная группа аспарагиновой кислоты.

Опыты по определению амидного азота белков показали (табл. 3), что сыворотка крови не оказывает особого влияния на их содержание в почечной ткани, инкубированной в течение одного часа с упомянутыми аминокислотами.

Наши прежние исследования [1] показали, что упомянутое вещество (оказывающее ингибирующее влияние на образование аммиака из аминокислот в почечной ткани), кроме сыворотки крови, содержится также в почечной и, особенно, в печеночной тканях. В связи с этим нас заинтересовала субклеточная локализация этого вещества в клетках упомянутых тканей. Результаты исследований (табл. 4) показали, что этот фактор локализован преимущественно в гиалоплазматической фракции клеток (при этом тормозящий эффект в более выраженной форме проявляется в печеночной ткани). Митохондриальная и ядерная фракции проявляют сравнительно слабый тормозящий эффект.

Таблица 3
Влияние сыворотки крови на содержание амидных групп белков коркового слоя почек, аммиак в мкМ/г ткани/час

Условия опыта	Буфер	Разница	Сыворотка	Разница
Контроль	89,4±5,5	—	92,9±4,7	—
Глутаминовая кислота	88,7±6,1	-0,7	93,4±5,8	+0,5
Аспарагиновая кислота	89,7±5,2	+0,3	92,5±5,5	-0,4
Орнитин	88,9±4,7	+0,5	93,1±4,2	+0,2

Средние данные 5 опытов.

Таблица 5
Влияние различных фракций клеток печени и почек на образование аммиака из L-аминокислот в корковом слое почек, мкМ/г ткани/час

Условия опыта	Контроль	Печеночная ткань			
		гомогенат	ядерная фракция	митохондриальная фракция	гиалоплазма
Глутаминовая кислота	5,5±0,8	1,0±0,2	3,0±0,2	2,4±0,1	0
Аспарагиновая кислота	10,0±1,1	4,5±0,5	6,3±0,8	7,0±0,4	0,5±0,1
Орнитин	11,0±0,9	7,7±0,8	7,1±0,6	9,1±1,0	1,5±0,2

Условия опыта	Контроль	Почечная ткань			
		гомогенат	ядерная фракция	митохондриальная фракция	гиалоплазма
Глутаминовая кислота	5,5±0,4	1,5±0,15	4,5±0,75	5,6±0,7	1,2±0,1
Аспарагиновая кислота	9,5±0,9	4,5±0,8	6,3±1,0	7,6±0,7	2,7±0,4
Орнитин	13,2±1,5	5,5±1,0	9,3±0,7	9,5±1,3	8,3±0,75

Средние данные 6 опытов.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что в присутствии сыворотки крови из L-аминокислот образуется значительно меньше аммиака, чем в среде буфера. Это не связано с усилением процессов фиксации образовавшегося аммиака в виде глутамина или амидных групп белков. Опыты показали, что в присутствии сыворотки крови в определенной мере подавляется деаминирование аминокислот. Очевидно, сыворотка крови животных содержит вещество (возможно вещества), которое оказывает тормозящий эффект на процессы деаминирования аминокислот. Можно предположить, что мы имеем дело с веществом, которое путем воздействия на соответствующие ферментные системы оказывает регуляторное влияние на скорость деаминирования аминокислот в живом организме. Этот эффект наблюдается при применении как натуральной, так и депротеинизированной сыворотки крови (после 10 мин кипячения почти все белки сыворотки крови осаждаются). Сыворотка крови не проявляет подавляющего влияния в отношении деамидирования глутамина. Наблюдаемое некоторое торможение образования аммиака из глутамина в срезах почек в присутствии сыворотки крови объясняется тем, что в срезах из глутамина аммиак образуется не толь-

ко из его амидной группы, но и из аминной группы глютаминовой кислоты, образовавшейся из глутамина, а глутамат, как известно, довольно интенсивно подвергается деаминированию в срезах коркового слоя почек, а в гомогенатах она не деаминируется и не дает выхода аммиака. Между тем, в срезах и в гомогенатах почек глутамин с высокой интенсивностью деамидируется с образованием большого количества свободного аммиака. Как показали вышеприведенные данные, сыворотка крови не оказывает влияния на образование аммиака из глутамина в гомогенатах коркового слоя почек. Следовательно, надо полагать, что в условиях *in vivo* в почках определенные механизмы регулируют деаминирование аминокислот, поддерживая их постоянный уровень в организме. С другой стороны, эти вещества, не оказывая влияния на деамидирование глутамина в почках, не препятствуют выделению аммиака из организма. Однако следует отметить, что в интактных клетках (срезы) вещество, содержащееся в сыворотке крови, подавляя деаминирование глютаминовой кислоты, которая является ингибитором глютаминазы [2], регулирует также и распад глутамина в почечной ткани. Довольно высокая скорость синтеза глутамина в почечной ткани, инкубированной в Кребс-Рингер-бикарбонатном буфере, что наблюдалось и в наших прежних исследованиях, была не понятна, т. к. в экскреторном органе, каким является почка, деятельность метаболических механизмов должна была быть направлена на выведение из организма аммиака. По-видимому, в условиях *in vivo* процессы синтеза глутамина в почках протекают с низкой интенсивностью и намного уступают его распаду, как это отмечается из результатов, полученных при инкубации срезов почек в сыворотке крови.

Интересно отметить, что активность регулирующего фактора в печеночной ткани выше, чем в почечной. Не исключена возможность, что это вещество синтезируется в печени и кровью переносится в почки, где и оказывает свое регулирующее влияние на процессы деаминирования аминокислот. Как показывают приведенные данные, регулятор процессов деаминирования аминокислот преимущественно локализован в гиалоплазматической фракции клеток печени и почек. Выделение и выяснение его природы составляет предмет наших дальнейших исследований.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 20.VII 1973 г.

Ժ. Ս. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Ա. Ս. ՆՈՎՉԱՆՆԻՍՅԱՆ

ԱՐՅԱՆ ՇԻՃՈՒԿԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԳԼՅՈՒՏԱՄԻՆՆԻՑ ԱՄԻԱԿԻ ԱՌԱՋԱՑՄԱՆ
ՎՐԱ ՍՊԻՏԱԿ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԵՐԻԿԱՄՆԵՐԻ ԿԵՂԵՎԱՅԻՆ ՇԵՐՏՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Փորձերը ցույց են տվել, որ սպիտակ առնետների արյան շիճուկը պարունակում է մի նյութ, որը որոշակի շափով ճնշում է L-ամինաթթուների (գլյուտամինաթթու, ասպարազինաթթու, օրնիտին) դեամինացումը, ազդեցություն

շգործելով գլյուտամինի դեամիդացման պրոցեսի վրա: Ծնթադրվում է, որ այդ նյութը կանոնավորող ազդեցություն ունի ամինաթթուների դեամինացման պրոցեսների վրա: Նույնպիսի ազդեցությամբ օժտված են նաև լյարդի և երիկամի էքստրակտները: Նշված հյուսվածքներում այդ նյութը գլխավորապես տեղակայված է բջջի հիալոսյլազմատիկ ֆրակցիայում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Оганесян А. С. и Геворкян Ж. С. ДАН АрмССР, 55. 1, 1973.
2. Sayre R. W. a. Roberts E. J. Biol. chem., 233, 1128, 1958.