

А. С. ОГАНЕСЯН, Ж. С. ГЕВОРКЯН, Дж. Л. БАРСЕГЯН

## АКТИВНЫЙ ТРАНСПОРТ ИОНОВ КАЛИЯ И НАТРИЯ И ДЕАМИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ В КОРКОВОМ СЛОЕ ПОЧЕК

Показано, что процессы активного транспорта ионов калия и натрия через клеточные мембраны являются важным условием для стимулирования тканевого дыхания и деаминирования аминокислот в корковом слое почек.

Рядом исследователей показано, что в мозговой и почечной тканях процесс активного транспорта ионов калия и натрия через клеточную мембрану стимулирует тканевое дыхание, а нарушение этого процесса, наоборот, подавляет его [5, 7, 10, 12, 13]. С другой стороны, была установлена тесная связь между активностью аденозинтрифосфатазы (АТФ-аза) и транспортом упомянутых катионов [8, 9, 11].

Результаты наших, а также исследований других авторов [1, 2, 6] показали, что срезы коркового слоя почек способны деаминировать ряд аминокислот с образованием значительного количества свободного аммиака. Эти процессы протекают в аэробных условиях.

Мы задались целью изучить взаимосвязь между процессами активного транспорта ионов калия и натрия, интенсивностью тканевого дыхания и деаминирования аминокислот в срезах коркового слоя почек, учитывая при этом, что в каюальцевом аппарате почек (корковый слой) трансмембранный перенос ионов калия и натрия протекает с высокой интенсивностью.

*Материал и методика.* Материалом служили срезы коркового слоя почек белых крыс, которые инкубировали (по 200 мг) в Кребс-Рингер-бикарбонатном буфере или трис-НСI буфере (2 мл), рН 7,4, при  $t=37^{\circ}\text{C}$ , в течение одного часа. Изучали интенсивность дыхания и образования аммиака из различных аминокислот (глутаминовая, аспарагиновая, орнитин) в присутствии ингибитора (строфантин) и активаторов (ионы калия и натрия) АТФ-азы, которая, как известно, принимает активное участие в процессах транспорта этих ионов через клеточную мембрану. Аминокислоты добавляли в количестве 16 мМ на пробу. Концентрации остальных добавлений указаны в соответствующих таблицах. Активность АТФ-азы определяли по Бонтингу и соотр. [3], содержание ионов калия и натрия—при помощи пламенного фотометра, аммиак—микродиффузионным методом по Конве.

*Результаты и обсуждение.* Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что строфантин в концентрации  $10^{-3}\text{M}$  оказывает подавляющее влияние на активность АТФ-азы. В этих условиях нарушается активный транспорт ионов калия и натрия через клеточную мембрану, что приводит к снижению содержания ионов калия и повышению ионов наг-

Таблица 1  
Влияние строфантина на активность АТФ-азы и содержание ионов калия и натрия  
в срезах коркового слоя почек  
Средние данные 5 опытов

Условия опыта	Активность АТФ-азы, Рi мг/г ткани/час	Содержание ионов, мг %	
		калий	натрий
Контроль	2,08±0,18	360,0±8,5	90,0±0,67
Строфантин 10 <sup>-3</sup> М	1,2±0,14	260,0±8,5	145,0±3,9

рия во внутриклеточной жидкости. Как видно из табл. 2, в присутствии строфантина наблюдается также подавление поглощения кислорода срезами почек и торможение процессов аммиакообразования из аминокис-

Таблица 2  
Влияние строфантина на поглощение кислорода и образование аммиака  
из L-аминокислот в срезах коркового слоя почек  
Средние данные 6 опытов

Условия опыта	Поглощение кислорода, мкЛ/г ткани/час	Количество образовавшегося аммиака, мкМ/г ткани/час		
		глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин
Контроль	1050,0±22,7	6,6±0,51	10,5±0,77	12,2±0,73
Строфантин 10 <sup>-3</sup> М	690,0±36,4	2,3±0,39	3,0±0,42	7,3±0,41

лот. С другой стороны, показано, что инкубация срезов почек в атмосфере с низким содержанием кислорода приводит к подавлению образования аммиака из аминокислот (табл. 3).

Таблица 3  
Влияние изменения газового состава на образование аммиака  
из L-аминокислот в срезах коркового слоя почек, мкМ/г ткани/час  
Средние данные 5 опытов

Условия опыта	Глутаминовая кислота	Аспарагиновая кислота	Орнитин
95% O <sub>2</sub> : 5% CO <sub>2</sub>	5,1±0,26	9,8±0,49	11,1±0,46
75% O <sub>2</sub> : 25% CO <sub>2</sub>	3,5±0,3	6,5±0,3	6,8±0,37
50% O <sub>2</sub> : 50% CO <sub>2</sub>	1,2±0,2	4,9±0,45	4,0±0,5
25% O <sub>2</sub> : 75% CO <sub>2</sub>	1,0±0,18	3,5±0,46	3,9±0,56
5% O <sub>2</sub> : 95% CO <sub>2</sub>	0,6±0,06	1,8±0,16	1,2±0,1

В следующей серии опытов мы изучали влияние ионов калия и натрия—активаторов АТФ-азы—на интенсивность процессов дыхания и де-аминирования аминокислот. Результаты исследований показали (табл. 4), что в присутствии ионов калия и натрия активность АТФ-азы

Таблица 4  
Влияние ионов калия и натрия на активность АТФ-азы, поглощение кислорода и образование аммиака из L-аминокислот в срезах коркового слоя почек  
Средние данные 6 опытов

Условия опыта	Активность АТФ-азы, Р <sub>i</sub> мг/г ткани/час	Поглощение кислорода, мкл/г ткани/час	Количество образовавшегося аммиака, мкМ/г ткани/час		
			глутамино-вая кислота	аспарагино-вая кислота	орнитин
Трис	1,15±0,2	330,0±31,5	0,3±0,04	1,0±0,06	1,2±0,06
Трис+Na <sup>+</sup>	1,8 ±0,25	875,5±38,0	4,2±0,16	6,7 ±0,15	7,6±3,6
Трис+Na <sup>+</sup> +K <sup>+</sup>	2,2 ±0,28	950,0 ±25,0	5,8 ±0,43	7,8±0,38	10,7±0,4

срезов почек повышается, а поглощение кислорода ими усиливается. При инкубации срезов почек в отсутствие их из аминокислот образуется небольшое количество аммиака. С добавлением этих ионов наблюдается значительное усиление интенсивности процессов аммиакообразования. Как показывают данные табл. 5, с повышением концентрации ионов натрия в инкубационной среде с 1 до 60 мМ/на литр, при сохранении постоянного уровня калия в физиологических пределах, наблюдается усиление образования аммиака из аминокислот. Дальнейшее повышение содержания натрия приводит к некоторому подавлению этого процесса.

Таблица 5  
Влияние различных концентраций ионов натрия на образование аммиака из L-аминокислот в срезах коркового слоя почек  
Средние данные 5 опытов

Содержание ионов в инкубационной среде, мМ на литр		Количество образовавшегося аммиака, мкМ/г ткани/час		
калий	натрий	глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин
0	0	0,3±0,04	1,0±0,06	1,2±0,06
4,5	1	1,2±0,08	1,7±0,17	2,6±0,2
4,5	5	2,9±0,1	3,8±0,23	4,8±0,18
4,5	10	3,2±0,27	4,7±0,18	6,1±0,22
4,5	25	4,2±0,1	5,4±0,2	6,8±0,1
4,5	60	5,3±0,16	7,8±0,33	7,7±0,3
4,5	75	5,1±0,13	7,2±0,27	7,3±0,3
4,5	120	4,5±0,2	6,3±0,23	6,0±0,2

Интересно отметить, что при добавлении к инкубационной среде только ионов натрия также отмечается образование значительного количества аммиака. Это объясняется тем, что в ходе инкубации срезов почек из клеток в инкубационную среду выходит определенное количество ионов калия (около 3,5—4,0 мМ), которые вместе с ионами натрия, стимулируя активность АТФ-азы, ускоряют также процессы дыхания и аммиакообразования из аминокислот.

Как показывают приведенные данные, образование аммиака из аминокислот тесно связано с окислительными процессами. В связи с

этим в дальнейшем для выяснения роли окислительного фосфорилирования в процессах деаминирования аминокислот мы использовали препараты, подавляющие эти процессы (2,4-динитрофенол (ДНФ) и цианистый калий). Известно, что оба препарата разными механизмами вызывают снижение содержания АТФ в тканях, который является основным источником энергии, необходимой для активного транспорта ионов (а также глюкозы и аминокислот).

Таблица 6

Влияние 2,4-динитрофенола и цианистого калия на образование аммиака из L-аминокислот, мкМ/г ткани/час  
Средние данные 8 опытов

Условия опыта	Контроль	2,4-динитрофенол $10^{-5}$ М	Цианистый калий $10^{-5}$ М
Глутаминовая кислота	$6,4 \pm 0,3$	$3,9 \pm 0,4$	$2,0 \pm 0,17$
Аспарагиновая кислота	$9,4 \pm 0,4$	$5,3 \pm 0,4$	$3,5 \pm 0,2$
Орнитин	$10,6 \pm 0,33$	$8,6 \pm 0,7$	$3,8 \pm 0,2$

Результаты опытов показали (табл. 6), что в присутствии этих метаболических ингибиторов наблюдается значительное подавление образования аммиака из аминокислот, особенно при наличии цианида, который, как известно, резко подавляет тканевое дыхание путем блокирования дыхательной цепи, снижает энергетическое состояние почечных клеток и вызывает выраженные нарушения в транспорте ионов калия и натрия [4, 5, 10].

Эти данные показывают, что деаминирование аминокислот связано именно с процессами окислительного фосфорилирования, в ходе которого образуются макроэргические фосфорные соединения, за счет энергии которых осуществляется активный транспорт ионов калия и натрия, что в свою очередь стимулирует и дыхание, и деаминирование аминокислот. Как видно, ДНФ и цианид, нарушая активный транспорт ионов, вызывают также торможение аммиакообразования из аминокислот, что поддерживает наше мнение о том, что транспорт ионов является необходимым условием для процессов окислительного деаминирования аминокислот.

Приведенные данные показывают, что определенные внутриклеточные метаболические процессы, особенно окислительные, тесно связаны с мембранными феноменами. Одним из важных процессов, протекающих на уровне клеточных мембран, является активный транспорт ионов калия и натрия.

Влияние активного транспорта на метаболические процессы четко проявляется в отношении процессов деаминирования аминокислот, интенсивность которых резко снижается при разрушении целостности клеточных мембран (при гомогенизации). При этом в значительной степени подавляется также тканевое дыхание. По всей вероятности, сни-

жение интенсивности тканевого дыхания и деаминации аминокислот в гомогенатах коркового слоя почек связано с нарушением активного транспорта ионов калия и натрия через клеточную мембрану, являющегося движущей силой как для тканевого дыхания, так и деаминации аминокислот.

По данным ряда исследователей, активный транспорт регулирует тканевое дыхание. Нас интересовала связь между активным транспортом ионов калия и натрия и процессами деаминации аминокислот. Этот вопрос изучался с одной стороны путем изъятия из инкубационной среды указанных ионов, а с другой — путем применения различных метаболических ингибиторов (цианид, ДНФ), нарушающих деятельность транспортных механизмов и подавляющих процессы образования макроэргических соединений, за счет которых осуществляется активный транспорт ионов. Как показали наши исследования, подавление активности мембранной АТФ-азы путем изъятия из инкубируемой среды ионов калия и натрия или добавлением специфического ингибитора — строфантина приводит к нарушению регуляции переноса этих ионов, а также торможению тканевого дыхания и деаминации аминокислот в срезах почек. С другой стороны, опытами с ДНФ и цианидом установлено, что одним из важных условий для деаминации аминокислот является не только бесперебойное функционирование дыхательного пути, но и аккумуляция образовавшейся в ходе этих процессов химической энергии в виде макроэргических соединений, за счет которых и осуществляется активный транспорт ионов калия и натрия, что стимулирует и тканевое дыхание и деаминацию аминокислот.

Предполагается, что стимулирующее действие активного транспорта на дыхание обусловлено образованием АДФ и неорганического фосфата из АТФ, который расщепляется АТФ-азой (мембранной) в ходе трансмембранного переноса ионов калия и натрия. По-видимому, в этих процессах принимают участие и другие неизвестные факторы, так как согласно нашим другим данным добавление АДФ и неорганического фосфата не вызывает особой активации процессов образования аммиака из аминокислот.

Таким образом, результаты наших исследований показывают, что активный мембранный транспорт ионов калия и натрия, стимулируя процессы дыхания, ускоряет также деаминацию аминокислот, в результате чего образовавшиеся кетокислоты, вовлекаясь в лимоннокислый цикл, стимулируют окислительное фосфорилирование и образование макроэргических фосфорных соединений, которые обеспечивают энергией процессы активного транспорта. Эти процессы генетически взаимосвязаны и обуславливают друг друга.

Ա. Ս. ՆՈՎՉԱՆՆԻՍՅԱՆ, Փ. Ս. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Զ. Լ. ԲԱՐՍԵՂՅԱՆ

ԿԱԼԻՈՒՄԻ ԵՎ ՆԱՏՐԻՈՒՄԻ ԻՈՆՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎ ՏՐԱՆՍՊՈՐՏԸ ԵՎ  
ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ԳԵԱՄԻՆԱՑՈՒՄԸ ԵՐԻԿԱՄՆԵՐԻ ԿԵՂԵՎԱՅԻՆ ՇԵՐՏՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Փորձերը ցույց են տվել, որ երիկամների կեղևային շերտում բջիջների թաղանթով տեղի ունեցող կալիումի և նատրիումի իոնների ակտիվ տրանսպորտը խթանում է ինչպես հյուսվածքի շնչառությունը, նույնպես և մի շարք ամինաթթուների (գլուտամինաթթու, ասպարագինաթթու, օրնիտին) դեամինացումը: Բջջի թաղանթով հիշյալ իոնների փոխադրման խանգարումները հանգեցնում են հյուսվածքի շնչառության, ինչպես նաև ամինաթթուների դեամինացման արգելակման: Ենթադրվում է, որ երիկամների կեղևային շերտի բջիջների ամբողջականության խախտման դեպքում (հոմոզենատ) նկատվող ամինաթթուների դեամինացման արգելակումը կապված է հիշյալ իոնների ակտիվ տրանսպորտի բացակայության հետ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Браунштейн А. Е., Азарх Р. М. Биохимия, 9, (6), 337, 1944.
2. Бунятыан Г. Х., Оганесян А. С., Геворкян Ж. С. ДАН СССР, 177, (4): 951, 1967.
3. Bonting S. L., Simon K. A. a. Hawkins N. M. Arch. Biochem. Biophys. 95, 416' 1961.
4. Chertok R. J., Hulet W. H. a. Epstein B. Am. J. Physiol., 211, (6), 1379, 1966.
5. Fujumito M., Nash F. D. a. Kessler R. H. Am. J. Physiol., 206, 1327, 1964.
6. Krebs H. A. Biochem. J., 29 (7), 1620, 1935.
7. Lassen U. V. a. Thaysen J. H. Biochem. Biophys. acta, 47, (3), 616, 1961.
8. Post R. L. a. Albricht C. D. In Membrane transport and metabolism, Pragua, 1961
9. Skou F. C. Physiol. Rev., 45, 59, 1965.
10. Weinstein S. W. Am. J. Physiol., 223, 583, 1972.
11. Wheller K. P. a. Whittam R. Biochem. J., 85, 495, 1962.
12. Whittam R. Nature, 191, 603, 1961.
13. Whittam R. a. Willis J. S. Am. J. Physiol., 168, 158, 1963.