

УДК 591.1.05

Академик АН Армянской ССР Г. Х. Бунятян, А. С. Оганесян, Ж. С. Геворкян,
К. А. Чобанян

К вопросу деаминации L-аминокислот в почечной ткани незрелых белых крыс

По литературным данным (1) ткани млекопитающих обладают очень низкой L-аминокислотоксидазной активностью. Наши прежние исследования (2, 3), показали, что срезы коркового слоя почек белых крыс (зрелых) в аэробных условиях интенсивно деаминируют ряд L-аминокислот (глутаминовая, аспарагиновая, гамма-аминомасляная, орнитин, пролин, аргинин и др.) с образованием значительного количества свободного аммиака. Среди этих аминокислот наибольший прирост аммиака отмечается из орнитина, аспарагиновой и глутаминовой кислот. Другие ткани (срезы и гомогенаты мозговой, мышечной и печеночной тканей) не обладают подобным свойством.

Деаминирующая активность почечной ткани связана с целостностью структуры почечных клеток и при ее нарушении деаминирующая активность не наблюдается.

Нашими исследованиями установлено, что почечные клетки активно секретируют аммиак против высокого концентрационного градиента. Деаминация L-аминокислот в почечной ткани тесно связана именно с процессом активной секреции аммиака в окружающую среду.

В дальнейшем для выяснения некоторых сторон механизма аммиакообразования из L-аминокислот в почечной ткани, мы провели ряд исследований у новорожденных (2—3-дневных) белых крыс. Опыты проводили со срезами коркового и мозгового слоев почек в отдельности, которые инкубировали на Krebs-Рингер бикарбонатном буфере pH—7.4 в течение одного часа при $t=37^{\circ}\text{C}$. Изучали образование аммиака из L-глутаминовой, L-аспарагиновой кислот, из L-орнитина и L-глутаминна, а также их превращения в почечной ткани. Аммиак определяли колориметрически, после добавления реактива Несслера. Микродиффузия аммиака проводилась по Конве. Аминокислоты определяли электрофоретическим методом. В настоящем сообщении приводятся результаты опытов, проведенных со срезами коркового слоя почек. Опыты показали, что обмен аминокислот в мозговом слое почек значительно отличается

от такового в корковом слое. Результаты исследований приведены в соответствующих таблицах. Для сравнения приводятся также и данные, полученные у взрослых крыс (4—5 месячного возраста).

Таблица 1

Образование аммиака из L-аминокислот срезами коркового слоя почек зрелых и незрелых белых крыс (в гаммах/г ткани/час)

Животные	Прирост аммиака			
	глутамино- вая кислота	аспарагино- новая кисло- та	орнитин	глутамин
Зрелые крысы . . .	105	163	200	475
Незрелые крысы . .	—	80	—	365

Как видно из табл. 1, при инкубировании срезов коркового слоя почек зрелых крыс с L-аминокислотами, наблюдается значительный прирост свободного аммиака; при этом выход аммиака из L-глутаминовой кислоты составляет 105, из L-аспарагиновой кислоты 163 и из L-орнитина 200 гамма /г. ткани/ час. Из этой же таблицы также видно, что срезы почек 2—3-дневных крыс способны деаминировать только добавленную L-аспарагиновую кислоту; L-глутаминовая кислота и L-орнитин не дают прироста аммиака по сравнению с инкубированным контролем. Следует отметить, что деаминирующая активность срезов почек в отношении L-аспарагиновой кислоты у взрослых животных значительно выше, чем у новорожденных—80 гамма /г ткани/ час. Подобная картина наблюдается и в отношении глутаминазы почечной ткани.

Таблица 2

Превращение L-аминокислот (эндогенных и добавленных) в срезах коркового слоя почек зрелых и незрелых крыс в ходе инкубации (в гаммах/г ткани/час)

Животные	Почечная ткань до инкубации			Почечная ткань после инкубации			Почечная ткань + глю- таминовая кислота			Почечная ткань + ас- парагиновая кислота			Почечная ткань + ор- нитин		
	глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин	глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин	глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин	глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин	глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин
Зрелые крысы	930	630	480	220	80	сл.	470	150	0	350	370	0	310	120	570
Незрелые кры- сы	850	570	550	360	220	сл.	460	290	0	420	380	0	450	210	500

Данные табл. 2 показывают, что при инкубации почечной ткани незрелых крыс эндогенная глутаминовая и аспарагиновая кислоты утили-

лизируются в меньшем количестве, чем у взрослых (зрелых) крыс. Это можно объяснить низкой активностью почечной ткани незрелых крыс окислять упомянутые аминокислоты.

Добавленная глутаминовая кислота слабо поглощается срезами почек незрелых крыс и частично превращается в аспарагиновую кислоту. Однако у зрелых крыс эта аминокислота довольно интенсивно поглощается срезами коркового слоя почек и накапливается в них. У взрослых крыс в присутствии глутаминовой кислоты также отмечается некоторое увеличение аспарагиновой кислоты, как это наблюдалось и у незрелых крыс. (табл. 2 и 3).

Таблица 3

Поглощение L-аминокислот из инкубируемой среды срезами коркового слоя почек зрелых и незрелых крыс (в гаммах/мл)

Животные	Добавлен к инкубируемой среде			Содержание аминокислот в инкубируемой среде после инкубации											
	глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин	Почечная ткань (контроль)			Почечная ткань + глутаминовая кислота			Почечная ткань + аспарагиновая кислота			Почечная ткань + орнитин		
				глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин	глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин	глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин	глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин
Зрелые крысы	940	1010	1400	180	0	0	680	110	0	380	530	0	300	40	1130
Незрелые крысы	940	1010	1400	220	0	0	890	0	0	360	780	0	250	0	1300

В присутствии аспартата наблюдается ее значительное поглощение срезами из инкубируемой среды и некоторое накопление ее в почечной ткани как незрелых, так и зрелых крыс. При этом отмечается значительно большее накопление этой аминокислоты в срезах почечной ткани зрелых крыс, по сравнению с незрелыми. Вместе с этим в почках зрелых крыс больше аспартата превращается в глутаминовую кислоту, чем у незрелых (табл. 2 и 3).

Орнитин также, как и глутаминовая кислота, слабо поглощается срезами почек незрелых крыс и не дает прироста аммиака. Однако у взрослых крыс эта аминокислота довольно интенсивно поглощается почечной тканью и дает выход большого количества аммиака. При добавлении орнитина, наблюдается некоторое повышение содержания глутаминовой и аспарагиновой кислот как у зрелых, так и у незрелых крыс, что, по-видимому, связано с превращением его в глутамат путем трансаминирования с L-кетоглутаратом и дальнейшим превращением образовавшейся глутаминовой кислоты в аспарагиновую (⁴⁻⁶), причем эти

превращения орнитина сравнительно высокой активностью протекают в почечной ткани взрослых крыс (табл. 2 и 3).

Наши исследования показали, что при добавлении орнитина вместе с щавелевоуксусной (ЩУК) кислотой, приводит к некоторому увеличению аспарагиновой кислоты, поэтому не исключена возможность, что в почечной ткани орнитин трансаминируется также и с ЩУК-ом. По данным Катанума (7) эта реакция в печеночной ткани протекает с весьма низкой активностью.

Таким образом, результаты исследований показывают, что почечная ткань (срезы коркового слоя) взрослых крыс способна интенсивно деаминировать L-глутаминовую, L-аспарагиновую кислоты, а также и L-орнитин, между тем, как срезы почечной ткани новорожденных (незрелых) крыс, деаминируют только L-аспарагиновую кислоту. Из инкубируемой среды срезы почек новорожденных крыс поглощают сравнительно больше аспарагиновой кислоты, чем глутаминовой кислоты и орнитина, а срезы почек взрослых крыс интенсивно поглощают все три упомянутые аминокислоты. В наших прежних публикациях мы высказали мнение о том, что в срезах почек L-глутаминовая, L-аспарагиновая кислоты и L-орнитин возможно деаминируются отдельными механизмами. Аспарагиновая кислота и орнитин дают больше выхода аммиака, чем глутаминовая, поэтому объяснить деаминирование аспартата и орнитина через систему α -кетоглутарат—глутаминовая кислота—глутаматдегидрогеназа не представляется возможным. Между этими аминокислотами также не наблюдается конкуренция за деаминирующую систему (глутамиат—аспартат; орнитин—глутамат; орнитин—аспартат).

Результаты настоящих исследований показывают, что в почках незрелых крыс функционирует ферментативный механизм, деаминирующий только L-аспарагиновую кислоту из изученных нами аминокислот; глутаминовая кислота и орнитин не деаминируются, между тем, как у взрослых крыс эти аминокислоты, а также ряд других аминокислот подвергаются интенсивному деаминированию. Следовательно, L-аспарагиновая кислота в почках этих крыс деаминируется не путем превращения ее в глутаминовую кислоту, а отдельной ферментной системой, которая отличается от таковой, осуществляющей деаминирование L-глутаминовой кислоты. Ферментные системы почек деаминирующие L-глутаминовую кислоту и L-орнитин развиваются позднее, в постнатальном периоде развития животного. Результаты предварительных опытов показывают, что на двенадцатый день после рождения, в корковой части почечной ткани белых крыс, наряду с аспарагиновой кислотой наблюдается прирост аммиака также из орнитина.

В последнее время Бунятяном и сотр. (8) развивается мнение о том, что аминоазот L-аминокислот переходит через α -кетоглутаровую кислоту на L-аспарагиновую, которая в свою очередь переносит аминогруппу на деамино-НАД (деамино форма никотинаденин-динуклеотида) в результате, образовавшийся НАД деаминируется соответствующим ферментом с образованием свободного аммиака.

Многими исследователями установлено, что действие глутамат-дегидрогеназы в тканях организма в основном направлено на синтез глутаминовой кислоты из α -кетоглутарата и аммиака. Наши данные показывают, что в срезах коркового слоя почек этот фермент в основном действует в сторону деаминирования глутаминовой кислоты с образованием свободного аммиака. Подобное явление наблюдается также в отношении действия ферментов, осуществляющих деаминирование L-аспарагиновой кислоты и L-орнитина.

В тканях млекопитающих не обнаружен фермент деаминирующий L-аспарагиновую кислоту. Наши исследования показывают, что почечная ткань белых крыс обладает довольно высокой активностью фермента, деаминирующего L-аспарагиновую кислоту в аэробных условиях. Что касается орнитина, то пути его обмена в почечной ткани мало изучены. Результаты наших исследований показывают, что орнитин интенсивно поглощается срезами коркового слоя почек и среди изученных нами аминокислот, дает наибольший выход свободного аммиака. Эта аминокислота в почках незрелых крыс частично превращается в глутаминовую и аспарагиновую кислоты, однако прироста аммиака при этом не наблюдается. Возможно, что это связано наличием различных пулов (запас) аминокислот во внутриклеточном пространстве, которые неодинаково доступны действию деаминирующих ферментов.

Изучение становления процессов образования аммиака из различных L-аминокислот в почечной ткани развивающегося организма способствует выяснению ферментативных систем принимающих участие в процессах деаминирования L-аминокислот в почечной ткани.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

Հայկական ՍՍՀ ԳԱ ակադեմիկոս Հ. Խ. ԲՈՒՆՅԱԹՅԱՆ, Ա. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ,
Ժ. Ս. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Կ. Ա. ՉՈՐԱՆՅԱՆ

Չհասունացած սպիտակ առնետների երիկամներում L-ամինոթթուների դեամինացման հարցի շուրջը

Հասուն (4—5 ամսական) սպիտակ առնետների երիկամների կեղևային մասի կտրվածքները ինտենսիվ կերպով կլանում և դեամինացման են ենթարկում գլյուտամինաթթուն, ասպարագինաթթուն և օրնիտինը (ինչպես նաև պրուլինը, արգինինը, և ուրիշ այլ ամինոթթուներ): Նորածին առնետների (2—3 օրեկան) երիկամների կեղևային մասի կտրվածքները դեամինացման են ենթարկում միայն միջավայրին ավելացրած ասպարագինաթթուն: Գլյուտամինաթթվից և օրնիտինից ամիակ չի ստացվում: Նախնական փորձերի տվյալներով 12 օրական սպիտակ առնետների երիկամներում երևան են գալիս օրնիտինը դեամինացնող ֆերմենտային սիստեմներ, իսկ ավելի ուշ այդ երևույթը նկատվում է նաև գլյուտամինաթթվի նկատմամբ:

Ենթադրվում է, որ այդ ամինոթթուները երիկամային հյուսվածքում դեամինացվում են առանձին-առանձին ֆերմենտային սիստեմներով:

Л И Т Е Р А Т У Р А — Ц И Т И Р У Е М Ы Е Т Р У Д Ы

¹ M. Blanchard, D. E. Green, V. Nocito a. S. Ratner, J. Biol. Chem. 155, 421 (1944). ² Г. Х. Бунятян, А. С. Оганесян и Ж. С. Геворкян, „Биол. журн. Армении“, 20, № 4, 107, 1967. ³ Г. Х. Бунятян, А. С. Оганесян и Ж. С. Геворкян, ДАН СССР, 177, 951 (1967). ⁴ H. Krebs a. D. Belamy, Biochem. J., 75, 523 (1960). ⁵ R. J. Haslam a. H. Krebs, Biochem. J., 88, 566 (1963). ⁶ O. Z. Sellinger, R. Catanzaro, E. Chain a. F. Rocchiari, Proc. Roy. Soc., S—B, 156, 148 (1962). ⁷ N. Katanuma, Y. Matsuda a. J. Tomino, J. Biochem. (Japan), 56, 499 (1964). ⁸ Г. Х. Бунятян и С. Г. Мовсесян, Вопр. биохимии мозга, 2, 5, 1966.