

БИОХИМИЯ

УДК 591.1.05

А. С. Оганесян, Ж. С. Геворкян

О транспорте α -аминокислот в почечную ткань

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятыном 18/III 1968)

Исследованиями ряда авторов установлено, что ионы натрия способствуют поглощению глицина, аланина, α -аминоизомасляной кислоты в тонком кишечнике (^{1,2}), в мышечной (³), мозговой (^{4,5}) и др. тканях.

Наши исследования (⁶) показали, что срезы коркового слоя почек белых крыс в аэробных условиях интенсивно деаминируют ряд L-аминокислот (глутаминовая, аспарагиновая, орнитин и др.) с образованием значительного количества свободного аммиака, что связано с целостностью почечных клеток и наличием в среде ионов калия и особенно натрия.

Имея в виду вышеуказанные литературные, а также наши данные о роли ионов калия и натрия в образовании свободного аммиака из L-аминокислот, мы провели ряд исследований по изучению влияния упомянутых моновалентных катионов, а также аэробных и анаэробных условий на транспорт L-глутаминовой, L-аспарагиновой кислот и L-орнитина в срезы коркового слоя почек.

Опыты были поставлены со срезами коркового слоя почек белых крыс. Инкубацию срезов проводили на трис буфере в присутствии и отсутствии ионов калия и натрия, при $t=37^\circ\text{C}$ в течение одного часа, в аэробных (кислород—95%, углекислый газ—5%) и анаэробных условиях (азот). Ионы калия и натрия добавляли в виде хлоридов, конечная концентрация которых составляла 5 и 58 мМ соответственно. Содержание аминокислот, добавленных в инкубируемую среду составляло 6 мМ (конечная концентрация). Общий объем инкубируемой смеси—2 мл. После инкубации срезы отделяли от инкубируемой жидкости и в них определяли содержание аминокислот электрофоретическим путем.

Данные, приведенные в табл. I показывают, что при инкубации в отсутствие ионов калия и натрия в среде, наблюдается выход из почечных срезов ощутимого количества глутаминовой и аспарагиновой кислот. Подобная картина наблюдается также в присутствии только ионов калия, между тем, как в присутствии ионов натрия и особенно натрия и

Таблица 1

Влияние ионов калия и натрия на поглощение некоторых L-аминокислот срезами коркового слоя почек белых крыс (аминокислоты в гаммах/г ткани или мл инкубируемой среды)

Условия опыта	Инкубируемая среда			Ткань		
	глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин	глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин
Добавлен к инкубируемой среде	1330	850	1500			
Эндогенное количество аминокислот				850	280	220
I. Буфер-трис						
1. Трис	260	70	0	90	30	0
2. " + глутаминовая кислота	1200			600	120	0
3. " + аспарагиновая кислота		680		300	350	0
4. " + орнитин			1280	310	120	380
II. Буфер-трис + K ⁺						
1. Трис + K ⁺	250	50	0	120	50	0
2. " + глутаминовая кислота	1280			470	180	0
3. " + аспарагиновая кислота		690		300	310	0
4. " + орнитин			1260	350	120	450
III. Буфер-трис + Na ⁺						
1. Трис + Na ⁺	110	Следы	0	180	70	60
2. " + глутаминовая кислота	820			710	220	80
3. " + аспарагиновая кислота		350		350	350	Следы
4. " + орнитин			950	240	60	580
VI. Буфер-трис + K ⁺ + Na ⁺						
1. Трис + K ⁺ + Na ⁺	95	Следы	0	260	120	80
2. " + глутаминовая кислота	670			750	260	120
3. " + аспарагиновая кислота		300		300	370	110
4. " + орнитин			820	240	60	750

калия вместе, выход этих аминокислот из ткани значительно уменьшается, и в срезах определяется сравнительно большое их количество. В отсутствие ионов калия и натрия наблюдается убыль небольшого количества добавленных аминокислот из инкубируемой среды. В соответствии с этим, отмечается некоторое увеличение их количества в срезах почек. При этом наблюдается незначительный прирост аммиака (табл. 2). Почти подобная картина имеется и в опытах, где добавлены только ионы калия. В присутствии ионов натрия отмечается значительная убыль добавленных аминокислот из инкубируемой среды, однако, в соответствующих пробах почечной ткани наблюдается небольшое увеличение содержания аминокислот. Это объясняется тем, что в присутствии ионов натрия с одной стороны усиливается транспорт аминокислот в почечную

ткань, а с другой—ускоряется их деаминирование, с образованием свободного аммиака (табл. 2). Аммиак, в присутствии ионов натрия, при помощи особого механизма активно секретруется в окружающую среду, этим путем устраняется его токсическое действие на деаминирующие ферменты, и тем самым обеспечивается дальнейшее деаминирование поступающих в клетку аминокислот. При добавлении ионов калия и натрия вместе, наблюдается более выраженное поглощение аминокислот из инкубируемой среды и дальнейшее усиление образования свободного аммиака из них (табл. 1,2).

Таблица 2

Влияние ионов калия и натрия на образование аммиака из L-аминокислот
(в гаммах/г ткани/час)

Аминокислоты	Прирост аммиака			
	трис	трис + K ⁺	трис + Na ⁺	трис + K ⁺ + Na ⁺
Глутаминовая кислота	13	22	88	105
Аспарагиновая кислота	24	29	114	165
Орнитин	24	30	129	182

Таблица 3

Поглощение L-аминокислот из инкубируемой среды срезами коркового слоя почек белых крыс в аэробных и анаэробных условиях (в гаммах/г ткани или мл инкубируемой среды/час)

Условия опыта	Эндогенное количество аминокислот	Количество добавленных к среде аминокислот	Содержание аминокислот после инкубирования				
			инкубационная среда		срезы		
			без добавления аминокислот	с добавлением аминокислот	без добавления аминокислот	с добавлением аминокислот	
Глутаминовая кислота	аэробные условия анаэробные условия	1050	910	60	650	270	400
				160	950	120	260
Аспарагиновая кислота	аэробные условия анаэробные условия	420	990	0	540	90	350
				80	920	60	160
Орнитин	аэробные условия анаэробные условия	250	960	0	720	50	320
				80	910	0	170

Из табл. 3 видно, что в анаэробных условиях по сравнению с аэробными, транспорт аминокислот значительно подавляется. С другой стороны, в анаэробных условиях (контрольные опыты) из срезов почечной ткани выходят в инкубируемую среду сравнительно большее количество аминокислот (эндогенных). После инкубации в аэробных условиях

в срезах почек определяется больше глутаминовой и аспарагиновой кислот, чем в анаэробных условиях. Понижение содержания аминокислот в анаэробных условиях (контрольные опыты), связано с одной стороны выходом их в инкубируемую среду, а с другой—блокированием цикла трикарбоновых кислот, который является источником образования α -кетоглутаровой и щавелевоуксусной кислот, необходимых для ресинтеза глутамата и аспартата. Опыты показывают, что превращение глутаминовой кислоты в аспарагиновую и обратно, в аэробных условиях протекает несравненно интенсивно, чем в анаэробных условиях, что также связано с функциональным состоянием цикла Кребса.

Таблица 4

Интенсивность поглощения L-аминокислот срезами коркового слоя почек белых крыс (в течение 3-часовой инкубации)

	Глутаминовая кислота			Аспарагиновая кислота			Орнитин		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Отношение $\frac{\text{ткань}}{\text{среда}}$	1,4	2,0	3,0	1,9	2,8	4,3	1,06	1,4	1,3

Данные табл. 4 показывают, что как глутамат и аспартат, так и орнитин (в аэробных условиях) активно поглощаются срезами почек (против концентрационного градиента) и накапливаются в них. Величина отношения концентраций аминокислот ткань: среда во всех случаях выше единицы, это особенно отмечается в отношении аспарагиновой и глутаминовой кислот.

Результаты наших исследований показывают, что ионы калия и особенно натрия играют важную роль в процессах транспорта аминокислот в почечную ткань и образования аммиака из них. Подобное явление наблюдали Фокс и сотр. (7) в отношении глицина и α -аминоизомасляной кислоты. В отсутствие ионов калия и натрия отмечается некоторое накопление всех трех нами изученных аминокислот в срезах почек, что является результатом диффузии. В присутствии только ионов калия не наблюдается особых изменений в процессах поглощения аминокислот и продукции аммиака из них. Однако, как только добавляются ионы натрия, отмечается значительное усиление поглощения из инкубируемой среды как глутаминовой и аспарагиновой кислот, так и орнитина. При одновременном добавлении ионов калия и натрия наблюдается дальнейшее усиление поглощения этих аминокислот срезами почечной ткани и отмечается накопление глутаминовой кислоты и орнитина в срезах почек. Что касается аспарагиновой кислоты, то особого увеличения ее содержания в срезах почек не наблюдается, однако, количество аспартата в инкубируемой среде значительно понижается и усиливается продукция аммиака из него, что указывает на усиление поглощения этой аминокислоты из инкубируемой среды. Но так как она с большой скоростью

аминируется, поэтому дальнейшее накопление ее в срезах почек не наблюдается. Не исключена возможность, что ионы натрия являются активаторами деаминирующих ферментов.

Как показывают приведенные данные, несмотря на то, что в отсутствии ионов калия и натрия определенное количество аминокислот из инкубируемой среды поступает в почечную ткань, тем не менее не наблюдается особого прироста продукции аммиака. Подобное явление наблюдается также, когда в инкубируемую среду добавляются только ионы калия. Однако, как только в инкубируемую среду добавляются ионы натрия или калия и натрия вместе, отмечается с одной стороны усиление деаминирования уже поступивших в клетку аминокислот, а с другой — усиление их транспорта. В отсутствие ионов калия и натрия, а также в анаэробных условиях нарушаются процессы энергообразования (за счет которой осуществляется как транспорт ионов, так и аминокислот) в результате этого аминокислоты из почечной ткани диффундируют в окружающую среду.

Предварительные опыты показывают, что глюкоза способствует, а строгантин, тиоловые реагенты (п-хлормеркурибензойная кислота и N-этилимид малеиновой кислоты) и низкая температура инкубируемой среды (20°C), наоборот подавляют транспорт аминокислот.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что процесс трансмембранного переноса L-аминокислот имеет активную природу и связан с затратой энергии (опыты в аэробных и анаэробных условиях).

Одним из важных условий выработки энергии, необходимой для транспорта аминокислот (а также и моносахаридов), является бесперебойное функционирование так называемых «натриевых насосов», локализованных в пределах клеточных мембран. Эти насосы начинают действовать, когда в инкубируемой среде в определенных количествах находятся ионы калия и натрия и не нарушен перенос электронов по дыхательной цепи. В этих процессах важную роль играет АТФ-аза, которая, активируясь ионами калия и натрия, вместе с АТФ ускоряет образование химической энергии за счет чего и осуществляется транспорт аминокислот (и моносахаридов).

Предварительные результаты наших опытов показывают, что положительный эффект ионов натрия на транспорт глюкозы и аминокислот, а также образования аммиака из них не связан специфическим действием этих ионов, а является результатом сочетанного действия их с ионами калия, которые во время инкубации выходят из тканей в окружающую среду.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

Երկամային հյուսվածքում L-ամինոթրոնների տրանսպորտի մասին

Սպրտակ առնետների երկամանների կեղևային մասի կտրվածքների վրա դրված փորձերը ցույց են տվել, որ կալիումի և հատկապես նատրիումի իոնները նպաստում են միջավայրից գլյուտամինաթթվի, ասպարագինաթթվի և օրնիտինի կլանմանն ու ամիակի առաջացմանը հիշյալ ամինոթրոններից: Ամինոթրոնների կլանումը երկամային հյուսվածքի կողմից ակտիվ պրոցես է այն ավելի ինտենսիվ կերպով ընթանում է անոթը պայմաններում կոնցենտրացիոն գրադիենտի հակառակ: Նատրիումի իոնների ավելացումից ստացված զգալի էֆեկտը հիշյալ պրոցեսների վրա հավանորեն պետք է բացատրել ինկուբացիայի ընթացքում հյուսվածքներից միջավայր դուրս եկած կալիումի իոնների հետ: «Նատրիումային արտամղիչ» մեխանիզմների վրա նրանց ունեցած գուգակցված ազդեցությամբ:

Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ր Ա Ս Ա Ն Ո Ւ Ք Յ Ո Ւ Ն

- ¹ T. Z. Czaky, Fed. proc., 20, 139, 1961. ² H. Rosenberg, A. Coleman a. L. E. Rosenberg, Biochem. Biophys. Acta, 102, 161 (1965). ³ D. M. Kipnis a. J. E. Parrish, Fed. proc., 24, 1051 (1965). ⁴ Y. Tsukada, Y. Nagata, Sh. Hirano a. T. Matsutani, J. Neurochem. 10, 241 (1963). ⁵ A. Cherai, J. Canderra a. A. Lajta, J. Neurochem., 14, 100 (1967). ⁶ Գ. Խ. Бунятыан, А. С. Огансян и Ж. С. Геворкян, ДАН СССР, 177, 90 (1967). ⁷ M. Fox, S. Theil, L. Rosenberg a. S. Segal, Biochem. Biophys. Acta, 79, 16 (1964).