

УДК 591.1.05

Ж. С. Геворкян

К вопросу транспорта L-аминокислот в корковом слое почечной ткани

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятыном 7/1 1969)

В литературе имеется ряд сообщений о том, что миозин, входящий в состав клеточной оболочки, обладает выраженной АТФ-азной активностью и играет важную роль в процессах мембранной проницаемости⁽¹⁾. Было установлено, что мембранная АТФ-аза принимает активное участие в регуляции трансмембранного переноса ионов калия и натрия в эритроцитах, мозговой, мышечной, печеночной и почечной тканях⁽²⁾. В последнее время в литературе появились сообщения о том, что ионы калия и, особенно, натрия способствуют транспорту аминокислот через клеточные мембраны в различных тканях⁽³⁾.

Наши исследования показали, что ряд L-аминокислот (глутаминовая, аспарагиновая, орнитин, аргинин и др.) поглощается и подвергается интенсивному деаминированию срезами коркового слоя почек белых крыс, с образованием значительного количества свободного аммиака. Ионы калия и, особенно, натрия способствуют как транспорту аминокислот, так и образованию аммиака из них (деаминирование). Они активируют мембранную АТФ-азу, которая является тиоловым ферментом и играет важную роль в процессах проницаемости клеточной оболочки. Эти данные побудили нас изучить влияние тиоловых ингибиторов (Р-хлормеркурибензойная кислота—ПХМБ, N-этилимид малеиновой кислоты—НЭМ), строфантина, а также малоновой кислоты и гидроксиламина на транспорт аминокислот и на активность мембранной АТФ-азы (срезов) коркового слоя почек.

Опыты были проведены со срезами коркового слоя почек белых крыс. Для определения интенсивности транспорта аминокислот срезы по 200 мг инкубировали в Кребс—Рингер—бикарбонатном буфере, а для определения активности АТФ-азы—на трис буфере. В инкубационной среде концентрации ингибиторов составляли: ПХМБ—1, НЭМ—1, строфантин—1, гидроксиламина— $5 \cdot 10^{-3}$ и малоновой кислоты—20 мМ, а количества добавленных аминокислот—указаны в соответствующих таблицах. Аммиак определяли по микродиффузионному методу Кон-

ве, неорганический фосфор (отщепленной из АТФ)—по Фиске—Субба-роу, аминокислоты—электрофоретическим методом.

Тиловые реагенты (ПХМБ, НЭМ), а также строфантин, малоно-вая кислота и гидроксилламин подавляют активность мембранной АТФ-азы (срезы) почечной ткани (табл. 1).

Таблица 1

Влияние строфантина, НЭМ, ПХМБ, малоновой кислоты и гидроксилламина на актив-ность АТФ-азы срезов коркового слоя почек белых крыс (мг Р/г ткани/час; средние данные из 6-ти опытов)

Контроль	Строфантин	НЭМ	ПХМБ	Малоновая кислота	Гидроксилламин
0,66±0,1	0,48±0,06 p<0,01	0,38±0,03 p<0,01	0,42±0,05 p<0,01	0,54±0,07 p<0,025	0,57±0,1 p<0,05

Упомянутые ингибиторы АТФ-азы оказывают угнетающее дейст-вие также на поглощение аминокислот из инкубируемой среды (табл. 2). В присутствии ингибиторов АТФ-азы—строфантина и ПХМБ, наблюдается выход значительного количества аминокислот из почеч-ной ткани в инкубируемую среду.

Таблица 2

Влияние строфантина и п-хлормеркурибензойной кислоты на транспорт L-аминокис-лот в срезы коркового слоя почек белых крыс (средние данные из 5-ти опытов)

Условия опыта	Количество аминокислот после инку-бации (в микромолях/г ткани/час)					
	инкубационная среда			ткань		
	глутамино-вая кислота	аспарагино-вая кислота	орнитин	глутамино-вая кислота	аспарагино-вая кислота	орнитин
Контроль до инкубации	—	—	—	6,6	3,1	2,1
Контроль после инкубации	1,2	0	0	1,6	0,9	0,7
Глутаминовая кислота—8,1 мкмоль	5,5	0,6	0	3,5	1,3	0,7
Аспарагиновая кислота—9,8 мкмоль	3,7	5,9	0	2,6	3,0	0,7
Орнитин—8,7 мкмоль	1,8	0,6	6,2	2,1	1,0	3,6
Строфантин	1,8	0,9	0,3	0,8	0,4	0,4
+ глутаминовая кислота	6,7	1,0	0,4	2,7	1,0	0,6
+ аспарагиновая кислота	2,0	7,6	0,3	1,9	2,2	0,6
+ орнитин	1,9	1,0	7,0	1,8	1,0	2,0
П-хлормеркурибензойная кислота	1,8	0,8	0,3	0,8	0,4	0,6
+ глутаминовая кислота	6,6	0,9	0,3	2,8	1,0	0,4
+ аспарагиновая кислота	1,9	7,3	0,3	2,0	2,3	0,4
+ орнитин	2,0	0,9	7,3	1,9	1,0	3,0

В связи с вышеизложенными представляло интерес изучить так-же процесс транспорта аминокислот в присутствии глюкозы и в ус-ловиях низкой температуры. Результаты опытов (табл. 3) показыва-ют, что в присутствии глюкозы значительно уменьшается количество

Таблица 3

Влияние глюкозы на поглощение L-аминокислот из инкубационной среды срезами коркового слоя почек белых крыс (средние данные из 5-ти опытов)

Условия опыта	Количество эндогенных аминокислот	Количество добавленных к среде аминокислот	Содержание аминокислот после инкубирования (в микромолях/г ткани или мл инкубируемой среды/час)			
			инкубационная среда		ткань	
			без добавления аминокислот	с добавленным аминокислот	без добавления аминокислот	с добавленным аминокислот
Глутаминовая кислота	5,0	5,5	0,6	3,5	2,0	2,8
+ глюкоза	5,0	5,5	1,1	2,9	2,3	3,5
Аспарагиновая кислота	2,4	6,8	0	3,4	0,9	2,2
+ глюкоза	2,4	6,8	0	2,8	0,4	3,4
Орнитин	1,7	6,5	0	4,2	0	2,0
+ глюкоза	1,7	6,5	0	3,4	0	3,2

добавленных аминокислот в инкубируемой среде, а в срезах соответственно увеличивается их содержание, что указывает на ускорение транспорта аминокислот в срезы почек. Следует отметить, что в контрольном опыте в присутствии глюкозы значительно увеличивается количество глутаминовой кислоты.

Таблица 4

Транспорт и превращение L-аминокислот в срезах коркового слоя почек белых крыс в условиях низкой температуры ($t=10^{\circ}\text{C}$) (средние данные из 4-х опытов)

Условия опыта	Содержание аминокислот в микромолях/г ткани или мл инкубируемой жидкости/час					
	инкубационная среда			ткань		
	глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин	глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин
Контроль до инкубации	—	—	—	5,1	2,4	1,7
Контроль после инкубации	1,4	1,1	1,1	2,3	0,8	0,6
Глутаминовая кислота — 7,5 мкмоль	7,0	1,2	0,3	2,8	1,0	0,7
Аспарагиновая кислота — 7,2 мкмоль	1,5	6,4	0,3	2,3	2,0	0,6
Орнитин — 8 мкмоль	1,5	1,1	7,3	2,4	1,0	1,7

Данные табл. 4 показывают, что в условиях сравнительно низкой температуры (10°C) почти полностью подавляется транспорт аминокислот в срезы почек. В этих условиях имеет место также и значительное угнетение активности АТФ-азы (табл. 5). Незначительное повышение количества аминокислот в срезах почек связано с их поступлением из инкубированной среды в почечную ткань путем диф-

Таблица 5

Активность АТФ-азы коркового слоя почек (сре-
зы) белых крыс при различных температурных
условиях
(средние данные из 5-ти опытов)

Неорганический фосфор, мг/г ткани/час	
при $t = 37^{\circ}\text{C}$	при $t = 10^{\circ}\text{C}$
$0,53 \pm 0,05$ $p < 0,01$	$0,19 \pm 0,02$ $p < 0,01$

фузии. В условиях низкой температуры почти полностью подавляет-
ся также образование аммиака из L-аминокислот.

Как показывают приведенные данные, вещества, ингибирующие
активность АТФ-азы подавляют также транспорт аминокислот. Интере-
сно отметить, что при этом наблюдается также подавление образо-
вания аммиака из L-аминокислот. Подобное явление наблюдается так-
же в условиях низкой температуры.

По литературным (⁴), а также по нашим данным, процессы
трансмембранного переноса аминокислот (ферментативный) имеют
природу активного транспорта и сопровождаются израсходованием
энергии.

В присутствии упомянутых ингибиторов, а также в условиях
низкой температуры подавляется активность ферментов (АТФ-аза и
др.), принимающих участие в образовании энергии, за счет которой
осуществляется трансмембранный перенос аминокислот.

Исследования Г. Х. Бунятына и А. С. Оганесяна (⁵) показали,
что система АТФ—АТФ-аза играет важную роль в транспортных про-
цессах. Как было видно из вышеизложенного, угнетение активности
этой системы (подавление синтеза АТФ или активности АТФ-азы)
приводит к нарушению транспорта упомянутых веществ через кле-
точную оболочку и, наоборот. В наших исследованиях как строфан-
тин, так и ПХМБ, НЭМ и низкая температура оказывают выражен-
ное торможение активности АТФ-азы, а малоновая кислота и гидрок-
силамин в этом отношении менее эффективны.

При взаимодействии АТФ с АТФ-азой энергия, аккумулирован-
ная в АТФ, по-видимому передается переносчику, который связыва-
ясь с аминокислотой на поверхности мембраны клетки переносит ее
во внутрь клетки. Энергия АТФ необходима для поддержания на оп-
ределенном уровне транспортирующей активности переносчика и прео-
доления им мембранных барьеров. Активность АТФ-азы под дейст-
вием упомянутых ингибиторов, а также низкой температуры пони-
жается, что нарушает образование энергии из АТФ и ее использова-
ние для процессов транспорта. Механизм ингибирования АТФ-азы

строфантин, ПХМБ и НЭМ, следует объяснить блокированием сульфгидрильных групп этого фермента, являющихся его активными центрами и играющих важную роль в проявлении ее ферментативной активности.

Стимулирующее действие глюкозы в отношении транспорта аминокислот надо объяснить усилением синтеза АТФ в почечной ткани. Образовавшийся при этом АТФ расходуется в процессах транспорта аминокислот. Заслуживает особого внимания подавление процессов образования аммиака в условиях угнетения активности АТФ-азы.

Полученные результаты показывают, что существует тесная связь между активностью мембранной АТФ-азы и процессом транспорта аминокислот в срезах коркового слоя почек. С другой стороны, подавление образования АТФ (при низкой температуре) также приводит к нарушению транспорта аминокислот. Следовательно, процессы транспорта аминокислот в почечной ткани имеют активную природу и регулируются системой АТФ—АТФ-аза, как это отмечалось в отношении глюкозы.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

Փ. Ա. ԿԵՎՈՐԿՅԱՆ

Երիկամի կեղևում L-ամինոթրուների տրանսպորտի հարցի շուրջը

Փորձերը դրվել են սպիտակ առնետների երիկամի կեղևի կտրվածքների վրա: Աստամնասիրվել է այդ կտրվածքները ադենոզինտրիֆոսֆատապոլիմերի ակտիվության և ամինոթրուների տրանսպորտի միջև եղած փոխադարձ կապը:

Փորձերը ցույց են տվել, որ սուլֆիդրիլ խմբերը արգելակող նյութերը (պ-բլորմերկուրի-բենզոական թթու—ՊՔՄԲ, մալեինաթթվի N-էթիլիմիդը—ՆԷՄ), ինչպես նաև ստրոֆանտինը, մալոնաթթուն և Նիդրոբսիլամինը մի կողմից ճնշում են ամինոթրուների տրանսպորտը (գլյուտամինաթթու, ասպարագինաթթու և օրնիտին) և ամիակի ստացումը նրանցից, իսկ մյուս կողմից արգելակում թաղանթային (կտրվածքներ) ԱՏՖ-ազայի ակտիվությունը: Նույնանման տվյալներ են ստացվել նաև ցած ջերմաստիճանի ($1-10^{\circ}$) պայմաններում:

Վերոհիշյալ տվյալները, ինչպես և դրականության մեջ եղած որոշ տվյալներ ցույց են տալիս, որ ամինոթրուների տրանսպորտը երիկամի բջիջների թաղանթով ունի ակտիվ բնույթ և կարգավորվում է ԱՏՖ-ԱՏՖ-ազա սխեմայով:

Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Ք Տ Ո Ւ Ն

¹ Б. Ф. Поглазов, „Биохимия“, 27, 161 (1962). ² J. C. Scou, Biochem. Biophys. Acta, 42, 6, 1960. ³ D. M. Klipnis and J. E. Parrish, Fed. Proc., 24, 1051, 1965. ⁴ A. Lajtha, Вопр. биохимии мозга, 3, 31, 1967. ⁵ Г. Х. Бунятыан и А. С. Оганесян, ДАН СССР, т. 149, 442 (1963).