

УДК 591.0.5

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

К механизму деаминирования L-аминокислот в почечной ткани

(Представлено 22/1 1969)

Проведенные нами исследования показали, что срезы коркового слоя почек белых крыс интенсивно деаминируют ряд L-аминокислот (глутаминовая, аспарагиновая, орнитин, гамма-аминомасляная, аргинин, пролин и др.) с образованием значительного количества свободного аммиака⁽¹⁾. Следует отметить, что подобным деаминирующим свойством обладают только срезы коркового слоя почек белых крыс, гомогенаты этой ткани даже в разведении 1:4 не обладают этим свойством.

Нами также было показано, что в отличие от коркового слоя почек, срезы печеночной и мозговой тканей лишены способности деаминировать вышеуказанные аминокислоты.

В дальнейшем нас интересовал механизм, лежащий в основе деаминирования аминокислот, особенно глутаминовой, аспарагиновой кислот и орнитина, которые среди изученных нами аминокислот деаминировались более интенсивно почечными срезами и продуцировали наибольшее количество свободного аммиака.

Первым долгом мы задались целью выяснить участие ряда кофакторов в деаминировании указанных аминокислот в корковом слое почечной ткани. Для этого срезы почек подвергали диализу против раствора сахарозы. Одновременно мы изучали процесс образования аммиака из добавленных АМФ, НАД и глутаминна. Из этих соединений особый интерес представляет НАД, который деаминируется в деамино-НАД, последний с аспарагиновой кислотой образует НАД-сукцинат, расщепляющийся на фумарат и НАД⁽²⁾. Затем НАД вновь подвергается деаминированию, с образованием свободного аммиака и деамино-НАД.

Диализ почечных срезов производили против 0,25М раствора сахарозы в целофановом мешке в течение 3, 10 и 20 часов, при $t + 4^{\circ}\text{C}$, после чего срезы отделяли путем центрифугирования, высушивали фильтровальной бумагой и на каждую пробу брали по 200 мг. Инкубацию проводили в Кребс—Рингер—бикарбонатном буфере в течение одного часа, при $t + 37^{\circ}\text{C}$. В ряде случаев супернатант по 0,5 мл добавляли к диализированным срезам и следили за изменением их деаминирующей способности.

Аминокислоты (глутаминовая, аспарагиновая кислоты и орнитин) брали в количестве 16, НАД (никотинамид-аденин-динуклеотид) 2,86 и НА (никотинамид) 8,2 *мкмоль* на пробу. Аммиак определяли микродиффузионным методом по Конве.

Как видно из табл. 1, диализ срезов в течение 20 часов приводит почти к полному исчезновению деаминирующей способности почечной ткани в отношении всех трех аминокислот (глутаминовая, аспарагиновая кислоты и орнитин), между тем, как НАД, АМФ и глутамин продолжают продуцировать аммиак в значительном количестве. Добавление НАД+НА почти не приводит к дальнейшему усилению аммиакообразования из L-аспарагиновой кислоты и L-орнитина, между тем, как НАД заметно стимулирует образование аммиака из L-глутаминовой кислоты.

Таблица 1

Образование аммиака из L-аминокислот в диализированных (в течение 20 часов) срезах коркового слоя почек белых крыс (средние данные из пяти опытов).
(прирост аммиака, в *мкмольх/г* ткани/час).

Условия опыта	Глутаминовая кислота	Аспарагиновая кислота	Орнитин	НАД + НА	Глутаминовая кислота + НАД + НА	Аспарагиновая кислота + НАД + НА	Орнитин + НАД + НА	Глутамин (16 <i>мкмоль</i>)	АМФ (10 <i>мкмоль</i>)
Срезы до диализа	6,6	9,2	13,6	4,5	10,3	12,2	17,5	37,0	11,7
Диализированные срезы	1,2	0,9	1,9	3,5	8,5	6,0	6,2	23,5	9,1
Диализированные срезы + супернатант	3,4	2,8	4,7	—	—	—	—	—	—

Диализ срезов в течение трех часов не вызывал особых изменений в деаминирующей активности почечной ткани. Но после десятичасового диализа (табл. 2) во всех пробах наблюдается значительное угнетение образования аммиака, однако, оно в отношении различных L-аминокислот выражено в неодинаковой мере. Наибольшее угнетение отмечается в отношении аспарагиновой кислоты (подавление на 91,8%), затем глутаминовой кислоты (на 59%) и меньше всего орнитина (на 50%).

Добавление супернатанта, полученного при отделении срезов после их диализа к диализированным срезам почечной ткани, приводит к частичному восстановлению активности ферментов, осуществляющих деаминирование L-аминокислот. Это особенно наблюдается в отношении деаминирования аспарагиновой кислоты.

Полученные данные свидетельствуют о том, что глутаминовая, аспарагиновая кислоты и орнитин деаминируются различными ферментными системами. В этом разрезе представлял интерес изучить деаминирующую способность почечной ткани при различных температурах инкубации.

* Никотинамид добавляли для подавления НАД-нуклеотидазной активности почечной ткани.

Опыты, проведенные в этом направлении (табл. 3) показывают, что выше и ниже 37°C имеет место значительное изменение аммиакообразующей способности почечной ткани. Эти изменения неодинаково выражены в отношении отдельных аминокислот. При понижении температуры с 37° до 25°C наблюдается резкое понижение образования аммиака из глутаминовой кислоты, а при 20°C образование аммиака из этой аминокис-

Таблица 2

Образование аммиака из L-аминокислот срезами коркового слоя почек после десятичасового диализа срезов (средние данные из пяти опытов).
(прирост аммиака, *мкмоль/г* ткани/*час*).

Условия опыта	Срезы до диализа	Диализированные срезы	Диализированные срезы + супернатант
Глутаминовая кислота	5,6	2,3	4,3
Аспарагиновая кислота	10,0	0,8	6,6
Орнитин	11,7	5,8	8,5
АМФ	15,0	12,8	13,8
Глутамин	3,8	30,3	33,4
НАД	5,8	4,9	6,2

лоты полностью прекращается. При повышении температуры с 37 до 45°C наблюдается значительное усиление образования аммиака из глутаминовой кислоты, а при 50°, наоборот, резкое понижение. При понижении температуры подавляется образование аммиака также из аспарагиновой кислоты, но это явление выражено в меньшей степени, чем в отно-

Таблица 3

Образование аммиака из L-аминокислот срезами коркового слоя почек белых крыс при различных температурах (средние данные из пяти опытов).
(прирост аммиака, *мкмоль/г* ткани/*час*).

Условия опыта	20 °C	25 °C	30 °C	37 °C	45 °C	50 °C
Глутаминовая кислота	0	1,18	2,35	6,33	8,55	0,17
Аспарагиновая кислота	3,0	7,0	8,35	10,45	5,84	0,3
Орнитин	1,53	5,47	9,29	11,93	15,3	2,73
АТФ	9,7	9,7	9,32	14,5	7,76	9,0
Глутамин	15,53	22,9	28,55	38,2	31,06	36,53

шении глутаминовой кислоты. Даже при 20°C добавленная аспарагиновая кислота дает значительный прирост аммиака (в количестве 3 *мкмоль*). При повышении температуры с 37 до 50°C отмечается резкое падение количества образовавшегося аммиака из аспарагиновой кислоты. Продукция аммиака из орнитина при понижении температуры также по-

нижается, но при 20°C еще наблюдается его образование из этой аминокислоты в количестве 1,53 мкмоль. Интересно отметить, что повышение температуры с 37 до 45°C приводит к значительному усилению образования аммиака из орнитина, а при дальнейшем повышении наблюдается резкое понижение количества образовавшегося аммиака. При 50°C из орнитина аммиак образуется намного больше, чем из глутаминовой и аспарагиновой кислот. Что касается глутаминна и АМФ, то как повышение, так и понижение температуры в пределах от 20 до 50°C не приводит к таким выраженным сдвигам в процессах образования аммиака из них, как это наблюдается в отношении глутаминовой, аспарагиновой кислот и орнитина.

Опыты показали, что добавление НАД к диализированным срезами вызывает некоторое усиление образования аммиака из L-глутаминовой кислоты. В отношении L-аспарагиновой кислоты и L-орнитина этого не наблюдается. Известно, что НАД является активной группой глутаматдегидрогеназы, по-видимому добавление его к диализированным срезам приводит к восстановлению активности этого фермента, осуществляющего деаминирование глутаминовой кислоты. Мы склонны думать, что в почечной ткани глутаминовая кислота деаминируется как при участии глутаматдегидрогеназы, так и через превращение ее в аспарагиновую кислоту, которая в свою очередь подвергается деаминированию отдельным путем.

Полученные данные подтверждают ранее высказанное нами предположение о том, что L-глутаминовая, L-аспарагиновая кислоты и L-орнитин в почечной ткани деаминируются отдельными ферментными системами (¹). Для выяснения природы этих ферментов, а также кофакторов, которые удаляются при диализе и участвуют в процессах деаминирования L-аспарагиновой кислоты, L-орнитина, а также L-глутаминовой кислоты в корковом слое почек, необходимы дальнейшие исследования.

Институт биохимии Академии наук
Армянской ССР

Հայկական ՍՍՀ ԳԱ ակադեմիկոս Հ. Խ. ԲՈՒՆՅԱՌՅԱՆ, Ա. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Ժ. Ս. ԳԻՎՈՐԳՅԱՆ

Երկամային հյուսվածքում L-ամինաթթուների դեամինացման մեխանիզմի շուրջը

Փորձերը դրվել են ապիտակ առնետների երկամյանների կեղևային մասի կտրվածքների վրա։ Ստացված արդյունքները ցույց են տվել, որ երկարատև դիալիզի դեպքում (20 ժամ) երկամյանի կտրվածքները համարյա լրիվ կորցնում են L-ամինաթթուները (գլյուտամինաթթու, ապարադինաթթու և օրնիտին) դեամինացնող հատկությունը։ ՆԱԿ (նիկոտինամիդ-ադենին-դինուկլեոտիդ) ավելացնելու դեպքում նկատվում է ամիակի առաջացման ուժեղացում միայն գլյուտամինաթթվից։ Ավելի կարճատև դիալիզի դեպքում (10 ժամ) երկամյանների կտրվածքների դեամինացնող հատկության իջեցումը արտահայտվում է ոչ միատեսակ վերոհիշյալ ամինաթթուների նկատմամբ։ Ամենից շատ նշվում է ապարադինաթթվի դեամինացումը, ինչպես գլյուտամինաթթվի և ապա օրնիտինի դեամինացումը։

Մի այլ սերիայի փորձերը ցույց են տվել, որ ցածր ջերմային պայմաններում (20°) ավելի
առաջադիմաբարձր դեամինացնող ֆերմենտը, իսկ բարձր ջերմային պայմաններում
օրնիտինը դեամինացնող ֆերմենտը:
Այս տվյալները ցույց են տալիս, որ երկամային հյուսվածքում L-գլյուտամինաթթուն,
առաջադիմաթթուն և L-օրնիտինը դեամինացվում են տարբեր ֆերմենտային սիստեմներով:

Л И Т Е Р А Т У Р А — Դ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

1. Գ. Խ. Бунятян, А. С. Оганесян и Ж. С. Геворкян, ДАН СССР, 177, 951 (1967).
2. Գ. Խ. Бунятян и С. Г. Мовсесян, Вопр биохимии мозга, 2, 5, Ереван, 1966.