

УДК 591.1.05

БИОХИМИЯ

Ж. С. Геворкян

Влияние глюкозы и некоторых ингибиторов на образование
 свободного аммиака из L-аминокислот срезами коркового слоя почек

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятыном 10/VII 1969)

Наши прежние исследования (¹) показали, что срезы коркового слоя почек белых крыс в аэробных условиях интенсивно деаминируют ряд L-аминокислот (глутаминовая, аспарагиновая, орнитин, аргинин и др.) с образованием значительного количества свободного аммиака. Эти процессы тесно связаны с целостностью почечных клеток и требуют присутствия ионов калия и особенно натрия в инкубируемой среде. При нарушении целостности почечных клеток (гомогенаты) их деаминирующая способность в отношении L-аминокислот исчезает. С другой стороны, изъятие ионов калия и натрия из инкубируемой среды приводит к резкому подавлению образования аммиака из L-аминокислот. Можно было полагать, что нарушение трансмембранного переноса ионов калия и натрия приведет и к торможению образования аммиака из L-аминокислот.

По литературным данным (^{2, 3}) строфантин путем подавления активности АТФ-азы нарушает деятельность мембранных механизмов, регулирующих транспорт ионов калия и натрия. Установлено, что под действием этого глюкозида ингибируется (⁴) и секреция аммиака в почках (*in vivo*). Исходя из вышесказанного, мы провели ряд опытов по влиянию строфантина, тиоловых реагентов (парахлормеркурибензойная кислота—ПХМБ и N-этилимид малеиновой кислоты—НЭМ), малоновой кислоты, гидроксиламина, а также глюкозы на образование свободного аммиака из L-аминокислот.

Результаты исследований (табл. 1) показали, что как строфантин, так и тиоловые реагенты (ПХМБ, НЭМ) оказывают подавляющий эффект на образование аммиака из добавленных L-глутаминовой, L-аспарагиновой кислот и L-орнитина в срезах почечной ткани белых крыс. Так, например, если прирост аммиака в контрольном опыте из глутаминовой кислоты составлял 6,6 мкмоль, то при добавлении глутаминовой кислоты со строфантином—2,3, с ПХМБ—4,6 и с НЭМ—4,7 мкмоль на

грамм ткани в час. Упомянутые ингибиторы подавляют образование аммиака также из L-аспарагиновой кислоты и L-орнитина. Интересно отметить, что действие строфантина в сравнительно выраженной форме проявляется в отношении глутаминовой и аспарагиновой кислот.

Как видно из данных, приведенных в табл. 2, малоновая кислота и гидроксилламин также подавляют образование аммиака как из глутаминовой, так и из аспарагиновой кислот.

Таблица 1

Влияние строфантина, ПХМБ и НЭМ на образование аммиака из L-аминокислот (прирост аммиака, $\mu\text{моль/г}$ ткани/час)

Аминокислоты	Прирост аммиака при добавлении			
	контроль	строфантин	пара-хлор- меркурибен- зонная к-та	N-этилимид малоновой кислоты
Глутаминовая кислота	$6,6 \pm 0,7$ $p < 0,01$ (5)	$2,3 \pm 0,25$ $p < 0,025$ (4)	$4,6 \pm 0,35$ $p < 0,01$ (5)	$4,7 \pm 0,15$ $p < 0,025$ (5)
Аспарагиновая кислота	$10,5 \pm 1,6$ $p < 0,01$ (5)	$3,0 \pm 0,4$ $p < 0,025$ (5)	$8,0 \pm 1,2$ $p < 0,025$ (5)	$6,6 \pm 0,9$ $p < 0,01$ (5)
Орнитин	$13,2 \pm 1,7$ $p < 0,01$ (5)	$7,3 \pm 1,1$ $p < 0,025$ (5)	$8,6 \pm 0,95$ $p < 0,25$ (5)	$7,0 \pm 0,5$ $p < 0,01$ (5)

Количество аммиака инкубированного контроля (без добавлений) составляло: $9,5 \pm 1,3 \mu\text{моль}$.

Таблица 2

Влияние малоновой кислоты и гидроксилламина на образование аммиака из L-аминокислот (прирост аммиака в $\mu\text{моль/г}$ ткани час)

Аминокислоты	Контроль	Малоновая кислота	Гидроксил- амин
Глутаминовая кислота	$6,6 \pm 0,7$ $p < 0,01$ (6)	$3,5 \pm 0,7$ $p < 0,05$ (5)	$4,0 \pm 0,7$ $p < 0,025$ (5)
Аспарагиновая кис- лота	$10,5 \pm 1,6$ $p < 0,01$ (7)	—	$7,6 \pm 0,8$ $p < 0,025$ (4)

Количество аммиака инкубированного контроля (без добавлений) составляло: $9,4 \pm 1,1 \mu\text{моль}$.

По литературным данным обмен глюкозы тесно связан с обменом аминокислот (ряд промежуточных продуктов обмена глюкозы, как пирувиноградная кислота, α -кетоглутаровая кислота и щавелевоуксусная кислота в животных тканях превращаются в соответствующие амино-

кислоты). В связи с этим, мы изучали влияние глюкозы на образование аммиака из некоторых L-аминокислот. Результаты этих исследований, приведенных в табл. 3, показывают, что глюкоза оказывает тормозящее действие на аммиакообразование из различных L-аминокислот, причем эффект глюкозы усиливается с повышением ее концентрации и более выражен в отношении L-аспарагиновой кислоты.

Таблица 3

Влияние глюкозы на образование аммиака из L-аминокислот срезами коркового слоя почек белых крыс (прирост аммиака, $\mu\text{моль/г}$ ткани/час)

Условия опыта	Глутаминовая кислота		Аспарагиновая кислота		Орнитин	
	контроль	глюкоза	контроль	глюкоза	контроль	глюкоза
Глюкоза—250 $\text{мг}\%$	$5,8 \pm 1,3$ $p < 0,001$ (8)	$5,3 \pm 1,9$ $p < 0,025$ (8)	$8,4 \pm 0,7$ $p < 0,005$ (8)	$5,7 \pm 2,6$ $p < 0,05$ (8)	$11,9 \pm 0,4$ $p < 0,001$ (8)	$10,3 \pm 0,3$ $p < 0,001$ (8)
Глюкоза—400 $\text{мг}\%$	$6,5 \pm 0,8$ $p < 0,01$ (3)	$5,5 \pm 0,2$ $p < 0,005$ (3)	$9,6 \pm 1,0$ $p < 0,01$ (3)	$6,4 \pm 0,4$ $p < 0,005$ (3)	$12,7 \pm 0,5$ $p < 0,025$ (3)	$10,7 \pm 0,4$ $p < 0,001$ (3)

Количество аммиака инкубированного контроля (без добавлений) составляло: без глюкозы— $9,9 \pm 0,9$; с глюкозой—250 $\text{мг}\%$ $8,5 \pm 1,5$; с глюкозой 400 $\text{мг}\%$ — $6,4 \pm 0,3$.

Полученные данные показывают, что как строфантин и тиоловые реагенты, так и глюкоза оказывают тормозящий эффект на образование аммиака из L-аминокислот. Исследования показали, что тормозящий эффект этих веществ осуществляется разными механизмами. Строфантин и тиоловые реагенты подавляют активность мембранной АТФ-азы почечных клеток, которая принимает активное участие в регуляции трансмембранного переноса ионов калия и натрия.

Было установлено, что аммиак активно секретируется почечными клетками в канальцевую мочу. В этих процессах принимает участие также мембранная АТФ-аза. Нашими прежними исследованиями установлено, что деятельность механизмов, регулирующих трансмембранный перенос ионов калия и натрия тесно связана с деятельностью механизмов, осуществляющих секрецию аммиака. Следовательно, надо полагать, что в пределах мембран клеток канальцев почек локализованы механизмы, благодаря которым активно секретируется образовавшийся внутри клетки аммиак в окружающую среду. Мембранная АТФ-аза принимает активное участие в деятельности этих механизмов. По-видимому, подавление активности этого фермента под действием строфантина и тиоловых реагентов приводит к нарушению секреции аммиака, который по всей вероятности ингибирует процесс деаминирования α -аминокислот, в результате чего отмечается понижение количества образовавшегося аммиака в присутствии упомянутых ингибиторов.

Механизм ингибирующего действия глюкозы на образование аммиака объясняется синтезом α -кетоглутарата из продуктов ее промежуточного обмена, который оказывает подавляющее действие на активность глутаматдегидрогеназы, возможно и ферментов, осуществляющих деаминирование L-аспарагиновой кислоты и L-орнитина. Кроме этого α -кетоглутарат аминирываясь за счет образовавшегося аммиака, также может привести к понижению образования аммиака из L-аминокислот. В анаэробных условиях подобный эффект глюкозы не отмечается, что также свидетельствует в пользу вышеизложенного механизма ингибирующего действия глюкозы на аммиакообразование из L-аминокислот. Механизмы ингибирующего действия малоновой кислоты и гидроксиламина на образование аммиака из L-аминокислот нуждаются в более подробных исследованиях.

Результаты опытов, проведенных со строфантином, дают нам основание полагать, что в пределах клеточных мембран локализованы специальные механизмы активно-секретирующие аммиак в окружающую среду. В результате действия этих механизмов обеспечивается низкий уровень аммиака внутри клетки и создаются условия для деаминирования поступивших в клетку L-аминокислот. Деятельность этих механизмов тесно связана с функцией других механизмов, регулирующих трансмембранный перенос ионов калия и натрия.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

Ժ. Ս. ԳԵԼՈՐԴՅԱՆ

Գլյուկոզայի և մի շարք ինհիբիտորների ազդեցությունը L-ամինաթթուներից ազատ ամոնիակի առաջացման պրոցեսների վրա երիկամի կեղևի կտրվածքներում

Ամոնիակահեղուկ է ստրոֆանտինը, պարա-բորմերկուրիդինաթթվի (PABA), մալեինաթթվի N -լիֆիլմիդի (NLE), մալոնաթթվի, հիդրոսուլամինի, ինչպես նաև գլյուկոզայի ազդեցությամբ որոշ L-ամինաթթուներից (գլյուտամինաթթու, առաքարգինաթթու, որնիտին) ամոնիակի առաջացման պրոցեսների վրա: Ցույց է տրվել, որ ստրոֆանտինը, ինչպես նաև PABA -ն, NLE -ը ձնշում են ամոնիակի առաջացումը L-գլյուտամինաթթվից, L-առաքարգինաթթվից և L-որնիտինից: Նման ազդեցություն ցուցաբերում է նաև գլյուկոզան: Սակայն նրանց ազդեցության մեխանիզմները տարբեր են: Ստրոֆանտինը և թիոլային ռեադենտները արգելադրում են բջիջների թաղանթային ԱՏՖ-ազայի ակտիվությունը, որը մասնակցում է ամոնիակի ակտիվ սեկրեցիայի պրոցեսներին: Այս ֆերմենտի արգելակման հետևանքով բջիջներում կուտակվում է ամոնիակը, որը բերում է L-ամինաթթուները դեամինացնող ֆերմենտների ակտիվության իջեցման և հետևաբար առաջացած ամոնիակի քանակի նվազեցման: Գլյուկոզայի ձնշող ազդեցությունը բացատրվում է նրանով, որ այդ մոնոսախարիդի փոխանակության հետևանքով առաջանում է զգալի քանակով α -կետոգլյուտարաթթու, որը մի կողմից արգելակող ազդեցություն ունի L-ամինաթթուները դեամինացնող ֆերմենտների ակտիվության վրա, իսկ մյուս կողմից ամինաթթվան ենթարկվելով ի հաշիվ առաջացած ամոնիակի, վերածվում է գլյուտամինաթթվի, որն իր հերթին նույնպես բերում է առաջացած ամոնիակի քանակի նվազեցման:

Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ե Ր Ը Կ Ը Ն Ո Ւ Ք Յ Ո Ւ Ն

- ¹ Դ. Խ. Бунятян, А. С. Оганесян и Ж. С. Геноркян, ДАН СССР, 177, 951 (1967).
- ² R. L. Post and C. D. Albright, In Membrane transport and metabolism, Prague, 1961.
- ³ I. M. Glinn, J. Physiol., 136, 148 (1957).
- ⁴ А. С. Оганесян, Вопросы биохимии, 3, 159 Ереван, 1963.