

БИОХИМИЯ

УДК 591.1.05

А. С. Оганесян, Ж. С. Геворкян

Влияние альфа-кетоглутаровой кислоты на образование аммиака
 из глутамина в различных слоях почек

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятыном 1/VI 1970)

Обмен аминокислот тесно связан с циклом трикарбоновых кислот. Было показано, что некоторые члены этого цикла (альфа-кетоглутаровая кислота— α -КГЛ, щавелевоуксусная кислота—ЩУК) путем транс-аминирования и преаминирования могут превращаться в соответствующие аминокислоты. С другой стороны в ходе метаболических превращений L-аминокислот (глутаминовая, аспарагиновая) образуются эти кетокислоты, которые, вовлекаясь в цикл Кребса, подвергаются окислению. Наши исследования показали, что как α -КГЛ, так и ЩУК в корковом слое почек принимают участие в процессах регуляции деаминирования ряда L-аминокислот (глутаминовая, аспарагиновая), которые интенсивно деаминируются в этом слое почек с образованием большого количества свободного аммиака. Установлено, что эти кетокислоты подавляют активность ферментов осуществляющих деаминирование L-аминокислот и образование аммиака из них в корковом слое почек.

В поисках механизмов регуляции образования аммиака в почечной ткани мы изучали влияние α -КГЛ на образование аммиака из глутамина, который является основным источником аммиака мочи. Некоторые кетокислоты являясь активаторами глутаминазы II усиливают образование аммиака из глутамина. опыты проводили со срезами и гомогенатами коркового и мозгового слоев почек. Для сравнения ряд опытов проводили также с печеночной и мозговой тканями. Срезы упомянутых тканей (по 200 мг) инкубировали в Кребс-Рингер-бикарбонатном буфере (2 мл) pH=7,4, в течение одного часа, при t—37°C. Определяли количество образовавшегося из глутамина аммиака (по Конве) и глутаминовой кислоты (электрофоретическим путем). На каждую пробу добавляли: глутамина—2,4 мг, α -КГЛ—1,5 мг. Результаты исследований приводятся в соответствующих таблицах.

Как показывают данные приведенные в табл. I корковый слой почек обладает наивысшей глутаминазной активностью, затем идут моз-

говой слой почек, кора головного мозга и печень. Альфа-кетоглутаровая кислота, в значительной степени подавляет образование аммиака из глутамин в срезах коркового слоя почек, а в мозговом слое в присутствии этой кетокислоты отмечается небольшое понижение количества образовавшегося аммиака из глутамин. Для сравнения изучали также влияние этой кетокислоты на аммиакообразование из глутамин и в других тканях. Как видно из этой же таблицы в печеночной и мозговой (кора головного мозга) тканях по сравнению с корковым слоем почек α -КГЛ оказывает несравненно слабое подавляющее действие на упомянутый процесс.

Таблица 1

Влияние α -КГЛ на образование аммиака из глутамин в различных тканях

Вид ткани	Препарат	Количество аммиака, $\mu\text{M}/\text{г}$ ткани/час					
		Контроль	α -КГЛ	Глутамин	Глутамин + α -КГЛ	Глутамин-новоя кислота	Глутамин-новоя кислота + α -КГЛ
Корковый слой почек	Срезы	10,8±1,8	8,5±2,2	29,0±2,6	20,7±3,1	20,5±1,1	13,5±0,9
	Гомогенат	9,9±0,5	9,5±0,9	25,8±1,6	24,6±1,6	7,8±0,7	8,2±1,2
Мозговой слой почек	Срезы	7,0±0,6	5,9±0,8	19,8±2,5	18,2±1,7		
	Гомогенат	8,1±0,7	9,1±0,5	19,2±3,1	19,0±1,4		
Печень	Срезы	4,7±0,8	4,5±0,5	10,0±1,2	7,9±1,1		
	Гомогенат	8,1±0,5	7,5±0,9	15,5±1,9	13,4±2,2		
Кора головного мозга	Срезы	6,3±0,4	6,0±0,2	13,3±1,1	11,5±1,2		
	Гомогенат	4,7±0,5	4,4±0,7	13,1±1,5	11,7±1,7		

Эти данные, а также и результаты наших прежних исследований относительно интенсивного деаминирования глутаминовой кислоты в срезах коркового слоя почек дали нам основание полагать, что подавляющий эффект α -КГЛ на образование аммиака из глутамин по-видимому связан не ингибированием активности глутаминазы, а ее действием на глутамат-дегидрогеназу, осуществляющую деаминирование глутаминовой кислоты образующейся из глутамин при его деаминировании. Для выяснения этого вопроса были проведены опыты с гомогенатами коркового слоя почек, которые, как показали наши прежние исследования, не обладают способностью деаминировать L-аминокислоты, но проявляют высокую глутаминазную активность. Результаты опытов (табл. 1) показали, что α -КГЛ не оказывает подавляющее действие на образование аммиака из глутамин в гомогенатах коркового слоя почек. Таким образом было показано, что подавляющее действие α -КГЛ на образование аммиака из глутамин в корковом слое почек связано с ингибированием активности глутамат-дегидрогеназы, под действием которой деаминируется часть глутаминовой кислоты образовавшейся при расщеплении глутамин. Эти опыты также показали, что определенная часть аммиака образовавшаяся из глутамин в корк

вом слое почек происходит из аминной группы глютаминовой кислоты.

Параллельно проведенные исследования по определению содержания глютаминовой кислоты (табл. 2) показали, что несмотря на высокую глютаминазную активность коркового слоя почек, обуславливающую расщепление сравнительно большего количества глютамина, чем в других тканях, тем не менее после инкубации в срезах коркового слоя почек определяется меньше глютаминовой кислоты, чем в мозговом слое почек, в коре головного мозга, печени, а также и в гомогенате коры почек. Эти данные показывают, что значительная часть глютаминовой кислоты, образовавшейся из глютамина, деаминируется срезами кор-

Таблица 2

Содержание глютаминовой кислоты в различных тканях после инкубирования их с глютамином

Вид ткани	Препарат	Количество глютаминовой кислоты, $\mu\text{M}/\text{г}$ ткани/час		
		Контроль	Глютамин	Разница
Корковый слой почек	Срезы	3,4±0,5	5,8±0,6	2,4
	Гомогенат	6,6±0,8	12,1±1,5	5,5
Мозговой слой почек	Срезы	4,8±0,7	10,4±1,4	5,6
Печень	Срезы	2,8±0,3	4,3±0,5	1,5
	Гомогенат			
Кора головного мозга	Срезы	3,4±0,6	7,3±0,6	4,0

кового слоя почек в ходе инкубации, а в других тканях и в гомогенате коркового слоя почек, так как эта аминокислота почти не подвергается деаминации, то она накапливается в результате расщепления глютамина. Исключение составляют срезы печени. По-видимому, здесь глютаминовая кислота, образовавшаяся из глютамина, принимает участие в определенных биохимических процессах (процессы нейтрализации, синтез глютамина и др.) в результате чего и не наблюдается накопление ее в ощутимых количествах. Не исключена возможность, что эта аминокислота в печеночной ткани подвергается деаминации, но так как образовавшийся аммиак интенсивно нейтрализуется путем синтеза мочевины, то прироста его не наблюдается. Это мнение поддерживается и тем, что при инкубировании гомогенатов печени, где синтетические процессы и деаминация аминокислот протекают сравнительно слабо, образовавшаяся из глютамина глютаминовая кислота накапливается в значительно большем количестве, чем в срезах.

Результаты проведенных исследований показывают, что α -КГЛ, которая является продуктом метаболических превращений ряда веществ, не оказывая влияния на образование и выделение аммиака из глютамина в корковом слое почек (а также и в мозговом слое почек) регулирует обмен глютаминовой кислоты, играющей важнейшую роль

во многих биохимических процессах, в том числе и в нейтрализации аммиака в различных тканях.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

Ա. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Ժ. Ս. ԿԵՎՈՐՅԱՆ

Ալֆա-կետոգլյուտարաթթվի ազդեցությունը գլյուտամինից
երիկամային հյուսվածքի տարբեր շերտերում ամոնիակի
սուաքացման ընթացքի վրա

Ստացված տվյալները ցույց են տվել, որ սպիտակ առնետների երիկամների կեղևային շերտի կտրվածքներում, ալֆա-կետոգլյուտարաթթուն (α -ԿԳԼ) ղգալի շափով ննչում է ամիակի սուաքացումը գլյուտամինից: Մինչդեռ այս հյուսվածքի հոմոգենատների վրա այդ կետոթթուն համարյա ազդեցութուն չի ցուցաբերում: Երիկամի միջուկային շերտում, ինչպես նաև լյարդի և ուղեղային հյուսվածքներում α -ԿԳԼ ցուցաբերում է թույլ արգելակող ազդեցութուն:

Պարզվել է, որ կեղևային շերտի կտրվածքների վրա α -ԿԳԼ ունեցած ուժեղ ազդեցութունը պայմանավորված է գլյուտամինաթթվի դեհիդրոգենազայի ակտիվության վրա՝ այդ կետոթթվի արգելակող ազդեցությամբ: Կեղևային շերտի հոմոգենատներում α -ԿԳԼ համարյա ազդեցութուն չունի գլյուտամինազայի ակտիվության վրա:

Այսպիսով երիկամային հյուսվածքում (հնարավոր է նաև այլ հյուսվածքներում) α -ԿԳԼ արգելակելով գլյուտամատ-դեհիդրոգենազայի ակտիվութունը կանոնավորում է այդ ամինաթթվի փոխանակութունը, մյուս կողմից ազդեցութուն չցուցաբերելով գլյուտամինազա 1 վրա չի արգելակում ամոնիակի արտազատումը օրգանիզմից: