

УДК 591.1.05

БИОХИМИЯ

А. С. Оганесян, Ж. С. Геворкян

Образование аммиака из L-аминокислот срезами почек в присутствии сыворотки крови

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунатяном 11/VI 1973)

Ранние исследования Кребса (¹), Браунштейна (²) и других авторов (³⁻⁵) показали, что при инкубации срезов коркового слоя почек белых крыс и других животных на фосфатном буфере отмечается продукция значительного количества свободного аммиака из ряда природных аминокислот (глутаминовая, аспарагиновая, аланин). Наши исследования (⁶⁻⁷), проведенные за последние годы в тех же условиях, показали, что помимо вышеупомянутых аминокислот, в корковом слое почек деаминируются также орнитин, аргинин, пролин, лизин, гамма-аминомасляная кислота и некоторые другие аминокислоты. Особенно большое количество продукции аммиака наблюдается из орнитина, аспарагиновой и глутаминовой кислот.

Имея в виду, что клетки почек непрерывно омываются межклеточной жидкостью, по своему составу близкой к сыворотке крови, в дальнейших исследованиях в качестве инкубационной среды, мы применяли сыворотку крови и изучали ее влияние на образование аммиака из некоторых L-аминокислот в срезах коркового слоя почек.

Срезы коркового слоя почек брали по 200 мг на пробу и инкубировали в сыворотке крови белых крыс, а также кроликов и человека, при 37°C в течение одного часа. Аминокислоты добавляли на каждую пробу по 16 мкмоль. Аммиак определяли путем микродиффузии по Коппе, с последующим добавлением реактива Несслера. Для контроля параллельно проводили те же исследования в Кребс-Рингер-бикарбонатном буфере.

Результаты исследований, приведенные в табл. 1, показывают, что при инкубации срезов почек в буфере из добавленных глутаминовой, аспарагиновой кислот и орнитина образуется значительное количество свободного аммиака, как это неоднократно отмечалось и в наших прежних опытах. При инкубации срезов в сыворотке крови белых крыс, кролика и человека наблюдается значительное подавление образования аммиака из упомянутых аминокислот. Следует отметить, что подав-

ление образования аммиака под действием сыворотки крови человека выражено в меньшей степени.

Полученные результаты побудили нас изучить влияние экстракта срезов почек на образование аммиака из вышеупомянутых аминокислот

Т а б л и ц а

Влияние сыворотки крови животных и человека на образование аммиака из L-аминокислот в срезах коркового слоя почек белых крыс (в мкмолях 0,2 г ткани/час). Средние данные из десяти опытов

Условия опыта	Глютамино- вая кислота	Аспарагино- вая кислота	Орнитин
Буфер	$1,26 \pm 0,2$	$2,04 \pm 0,1$	$2,54 \pm 0,2$
Сыворотка белой крысы	$0,32 \pm 0,02$	$0,48 \pm 0,05$	$0,87 \pm 0,01$
Сыворотка кролика	$0,28 \pm 0,01$	$0,52 \pm 0,03$	$1,24 \pm 0,07$
Сыворотка человека	$0,44 \pm 0,04$	$0,92 \pm 0,07$	$1,46 \pm 0,1$

Т а б л и ц а

Влияние экстракта срезов коркового слоя почек на образование аммиака из L-аминокислот (в мкмолях (0,2 г ткани/час) Средние данные из шести опытов

Условия опыта	Глютамино- вая кислота	Аспараги- новая кис- лота	Орнитин
Контроль	$1,3 \pm 0,15$	$2,4 \pm 0,2$	$2,4 \pm 0,25$
Экстракт срезов	$0,2 \pm 0,01$	$1,3 \pm 0,02$	$1,7 \pm 0,1$
Экстрагированные срезы	$2,0 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,2$	$3,0 \pm 0,15$

Мы предполагали, что некоторые вещества, содержащиеся в сыворотке крови и оказывающие подавляющее влияние на образование аммиака из L-аминокислот, могут находиться и в почечной ткани. С этой целью срезы почек встряхивали в Кребс-Рингер-бикарбонатном буфере в течение 20 минут, после чего путем центрифугирования их отделяли от инкубационной среды и инкубировали в буферном растворе, а упомянутый экстракт срезов почек употребляли для инкубирования свежих срезов. Опыты показали (табл. 2), что почечный экстракт, так же как и сыворотка крови, значительно подавляет аммиакообразование из упомянутых аминокислот. Причем тормозящее действие в большей степени проявляется в отношении дезаминирования глютаминовой кислоты. Подавление дезаминирования аспарагиновой кислоты и орнитина менее выражено, как и в опытах с сывороткой крови. Интересно отметить, что срезы почек, обработанные буфером, проявляют большую дезаминирующую активность, чем контрольные, что, по-видимому, обус-

Таблица 3

Влияние различных количеств сыворотки крови белых крыс на образование аммиака из L-аминокислот (в мкмольх/0,2 г ткани/час)

Средние данные из шести опытов

Названия аминокислот	Контроль (на буфере)	Степень разбавления сыворотки крови							Неразбав- ленная сы- воротка
		40 раз	20 раз	10 раз	6,6 раз	5 раз	4 раза	2 раза	
Глутаминовая кислота	$1,2 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,1$	$0,65 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,07$	$0,2 \pm 0,07$	$0,15 \pm 0,02$	$0,13 \pm 0,02$	$0,13 \pm 0,02$
Аспарагиновая кислота	$2,1 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,15$	$1,6 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,25$	$1,15 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,1$	$0,76 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,03$
Орнитин	$2,2 \pm 0,2$	$2,15 \pm 0,1$	$2,2 \pm 0,4$	$2,0 \pm 0,15$	$1,6 \pm 0,25$	$1,5 \pm 0,3$	$1,45 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,15$

Таблица 4

Влияние сыворотки крови белых крыс на поглощение L-аминокислот срезами коркового слоя почек белых крыс (в мкмольх/0,2 г ткани или мл инкубируемой среды/час). Средние данные из шести опытов

Условия опыта	Б у ф е р			С ы в о р о т к а		
	Глютаминовая кислота	Аспарагиновая кислота	Орнитин	Глютаминовая кислота	Аспарагиновая кислота	Орнитин
Среда						
Контроль	$1,0 \pm 0,04$	$0,6 \pm 0,1$	следы	$3,4 \pm 0,6$	$0,48 \pm 0,04$	$0,8 \pm 0,1$
Глютаминовая кислота	$6,6 \pm 0,8$	$0,6 \pm 0,14$	следы	$11,2 \pm 1,4$	$0,8 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,1$
Аспарагиновая кислота	$4,5 \pm 0,6$	$3,2 \pm 0,4$	следы	$6,2 \pm 0,6$	$5,3 \pm 0,7$	$0,8 \pm 0,1$
Орнитин	$1,8 \pm 0,08$	$0,5 \pm 0,08$	$5,3 \pm 0,8$	$4,4 \pm 0,4$	$1,0 \pm 0,2$	$7,4 \pm 1,0$
Ткань						
Контроль	$0,7 \pm 0,1$	$0,22 \pm 0,06$	$0,52 \pm 0,06$	$1,1 \pm 0,1$	$0,33 \pm 0,05$	$0,42 \pm 0,06$
Глютаминовая кислота	$1,26 \pm 0,2$	$0,32 \pm 0,02$	$0,3 \pm 0,04$	$1,4 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,06$	$0,4 \pm 0,04$
Аспарагиновая кислота	$1,24 \pm 0,2$	$0,52 \pm 0,1$	$0,52 \pm 0,04$	$1,3 \pm 0,1$	$0,67 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,06$
Орнитин	$1,0 \pm 0,2$	$0,28 \pm 0,02$	$0,98 \pm 0,06$	$1,28 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,05$	$0,7 \pm 0,1$

овлено выходом в эстрагируемую жидкость определенных веществ, оказывающих подавляющее действие на образование аммиака из L-аминокислот.

В дальнейших опытах мы в инкубационную среду добавляли сыворотку, разбавленную от 2 до 40 раз. Результаты этих опытов (табл. 3) показали, что дезаминирование отдельных аминокислот в присутствии сыворотки крови подавляется в неодинаковой степени. Наиболее чувствительным в этом отношении является дезаминирование глютаминовой и аспарагиновой кислот. Даже при разбавлении сыворотки крови в 40 раз, отмечается небольшое, но достоверное подавление образования аммиака из этих аминокислот. Дезаминирование орнитина менее чувствительно к тормозящему действию сыворотки крови. Подавление образования аммиака из этой аминокислоты начинается при разбавлении сыворотки не более, чем в 6,6 раз.

В дальнейшем мы изучали влияние сыворотки крови на процессы поглощения аминокислот из инкубируемой среды срезами почечной ткани. Результаты исследований (табл. 4) показывают, что при инкубации срезов почек в Кребс-Рингер-бикарбонатном буфере наблюдается поглощение значительного количества добавленных аминокислот из инкубируемой среды, в то время как инкубация срезов в сыворотке крови приводит к выраженному торможению поглощения добавленных аминокислот. При инкубации срезов почек в буферном растворе в присутствии добавленных аминокислот их содержание в срезах сравнительно больше, чем в тех же условиях, но в среде с добавлением сыворотки крови. Результаты исследований показывают, что сыворотка крови содержит определенные вещества, которые действуют как на транспорт аминокислот, так и на процессы их дезаминирования в самих клетках. Надо полагать, что эти вещества регулируют скорость процессов дезаминирования L-аминокислот в почках (возможно, и в других тканях) в зависимости от физиологического состояния организма (режим питания, кислотно-щелочное равновесие и др.), что может иметь важное значение для регуляции обмена аминокислот.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

Ա. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Ժ. Ս. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ

Ամիակի առաջացումը L-ամինաթթուներից երիկամների կտրվածքներում
արյան շիջուկի ներկայությամբ

Փորձերը դրվել են սպիտակ առնետների երիկամների կեղևային շերտի կտրվածքների վրա: Ստացված տվյալները ցույց են տվել, որ ինչպես առնետների, նույնպես և ճաղարների ու մարդկանց արյան շիջուկը պարունակում է

մի նյութ (կամ նյութեր), որը որոշակի չափով ճնշում է ամինաթթուների դեամինացումը երիկամների կեղևային շերտի կտրվածքներում: Այդ նյութը պարունակվում է նաև երիկամային հյուսվածքում: Յույց է տրվել նաև, որ արյան շիջուկի արգելակող ազդեցությունն ավելի արտահայտված է գլյուտամինաթթվի և ասպարազինաթթվի դեամինացման նկատմամբ, իսկ օրնիտինի նկատմամբ այն համեմատաբար թույլ է արտահայտված:

Ստացված տվյալները հիմք են տալիս ենթադրելու, որ արյան շիջուկում գտնվող այդ նյութը ֆիզիոլոգիական պայմաններում կանոնավորող ազդեցություն է թողնում ամինաթթուների փոխանակության վրա երիկամներում:

ЛИТЕРАТУРА — ՓՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

¹ H. A. Krels, Biochem. I., 29, 1951, 1935. ² А. Е. Браунштейн Р. М. Азарх, Биохимия, 9, (6), 337(1944). F. Salvatore, V. Lippia a. E. Cortere, ³ Enzymologia, 31(2), 113 (1966). ⁴ H. G., Preuss, Am. I. physiol., 220 (1), 54 (1971). ⁵ H. G. Preuss, a. F. R. Weiss, Am. I. physiol., 221 (2), 458(1971). ⁶ Г. Х. Бунятыя, А. С. Оганесян, Ж. С. Геворкян, АН СССР, 177, №4, 951 (1967). ⁷ Ж. С. Геворкян, Авто-реферат канд. дисс., Ереван, 1969.