

А. С. ОГАНЕСЯН, Л. А. АРУТЮНЯН

К ВОПРОСУ ОБ ОБРАЗОВАНИИ АММИАКА
В КОРКОВОМ СЛОЕ ПОЧЕК БЕЛЫХ КРЫС
ПРИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ
ОРГАНИЗМА

Изучалось влияние экспериментального ацидоза и алкалоза на образование аммиака срезами коркового слоя почек белых крыс из некоторых L-аминокислот, глутамина, АМФ и НАД. Установлено, что при ацидозе наряду с усилением деамидирования глутамина ускоряются также процессы деаминирования глутаминовой, аспарагиновой кислот и упомянутых нуклеотидов. Скорость деаминирования орнитина при этом не изменяется. При алкалозе отмечается значительное подавление аммиакообразования из упомянутых аминокислот и НАД; образование аммиака из АМФ усиливается, как и при ацидозе.

Многочисленными исследованиями установлено, что нарушение кислотно-щелочного равновесия организма сопровождается изменением уровня экскреции аммиака с мочой: метаболический ацидоз приводит к повышению, а алкалоз — к понижению количества аммиака в ней [3, 10, 11, 14]. По данным ряда авторов, эти сдвиги связаны с изменением активности почечной глутаминазы, расщепляющей основной предшественник аммиака мочи — глутамин [3, 14, 15]. Было установлено, что при ацидозе в почечной ткани понижается содержание глутаминовой кислоты, являющейся ингибитором глутаминазы [4—6, 16], в результате чего повышается активность этого фермента, что приводит к усилению образования аммиака и выделения его почками. Было также показано, что при ацидозе повышается, а при алкалозе, наоборот, понижается скорость превращения глутаминовой и α -кетоглутаровой кислот в глюкозу [7—9, 17]. Эти данные послужили основанием для выдвижения гипотезы относительно регулирующего влияния глюконеогенеза на продукцию аммиака в почках. Однако исследования последнего времени показали, что соединения, блокирующие образование глюкозы в срезах коры почек (фенилпируват, малонат, арсенит, йодацетат), не оказывают существенного влияния на образование аммиака в почках при экспериментальном ацидозе. Таким образом, хотя при ацидозе усиливается образование глюкозы в почках, тем не менее процессы глюконеогенеза не оказывают регулирующего влияния на образование аммиака в этом органе.

Известно, что наряду с глутамином источником аммиака мочи являются также и аминокислоты (по некоторым данным, роль аминокислот в образовании аммиака мочи достигает 40—50%). В нашей лаборатории было показано, что ряд L-аминокислот (глутаминовая, аспарагиновая, орнитин и др.) подвергается интенсивному деаминированию срезами коркового слоя почек белых крыс с образованием большого количества свободного аммиака [1]. В свете вышеизложенного нам представлялось интересным проследить за изменением процессов деаминирования некоторых природных аминокислот и нуклеотидов в срезах коры почек белых крыс в условиях экспериментального ацидоза и алкалоза.

Крысы-самцы были разделены на три группы. Контрольная группа получила воду, животные второй группы взамен воды получили 0,1 N HCl, а третьей—0,12M NaHCO₃. Все животные содержались на обычном пищевом рационе. Через 10 дней крыс забивали декапитацией и определяли активность ферментов, принимающих участие в образовании аммиака из глутаминовой, аспарагиновой кислот, орнитина, а также глутамина, АМФ и НАД в срезах коркового слоя почек. Срезы почек по 200 мг инкубировали в Кребс-Рингер-бикарбонатном буфере при 37°C в течение одного часа. На каждую пробу добавляли в микромолях: аминокислот—16, АМФ—10, НАД—2,86. Аммиак определяли микродиффузионным методом по Конве. Параллельно определяли титруемую кислотность и аммиак мочи.

Проведенные исследования показали, что пероральное введение соляной кислоты и бикарбоната натрия вызывает значительные сдвиги в кислотно-щелочном равновесии организма, что проявляется и в изменении кислотности мочи.

Таблица 1

Влияние метаболического ацидоза и алкалоза на титруемую кислотность мочи и выделение аммиака с мочой (средние данные 7 опытов)

Условия опыта	Диурез	pH мочи	Титруемая кислотность мочи (на 1 мл) в мл N/10 NaOH	Аммиак мочи (в мкмольях/мл)	Суточная экскреция аммиака
Норма	8,0	6,5	0,22	24,1±2,5	192,8
Ацидоз	5,9	6,0	0,58	43,1±2,0	254,3
Алкалоз	6,3	7,0	0,1	17,1±1,7	107,7

Как видно из представленных в табл. 1 данных, прием соляной кислоты вызывает у подопытных животных подкисление мочи, в то время как под влиянием длительного применения бикарбоната натрия происходит выраженное ее подщелачивание, что свидетельствует о наличии метаболического ацидоза и алкалоза, развивающихся под воздействием приема упомянутых веществ. Уровень экскретируемого с мочой свободного аммиака при ацидозе повышается, а при алкалозе

понижается. Примечательно, что изменение количества выделяемого из организма аммиака более выражено при алкалозе, нежели при ацидозе.

В табл. 2 приведены результаты опытов по изменению диаминирующей и деамидирующей способности срезов коркового слоя почек белых крыс в условиях экспериментального ацидоза.

Таблица 2
Влияние метаболического ацидоза на образование аммиака из некоторых L-аминокислот и нуклеотидов в срезах коркового слоя почек белых крыс (прирост аммиака в мкмоль/г ткани/ч.)

Аминокислоты и нуклеотиды	Норма	Ацидоз	% изменения
Глютаминовая кислота	$4,8 \pm 0,36$ (8)	$6,4 \pm 0,32$ (8)	+33,3
Аспарагиновая кислота	$7,8 \pm 0,45$ (8)	$9,2 \pm 0,56$ (8)	+18,0
Орнитин	$9,8 \pm 0,54$ (8)	$9,9 \pm 0,61$ (8)	—
Глютамин	$25,5 \pm 1,25$ (8)	$27,6 \pm 1,27$ (8)	+ 8,2
АМФ	$12,2 \pm 0,53$ (7)	$13,9 \pm 0,54$ (7)	+13,9
НАД	$3,2 \pm 0,5$ (7)	$4,2 \pm 0,4$ (7)	+31,2
Содержание аммиака в инкубированных контролях	$8,2 \pm 0,29$	$9,7 \pm 0,34$	—

Как видно из таблицы, при ацидозе отмечается усиление интенсивности деамидирования глутамина и деаминирования природных аминокислот. Обращает на себя внимание неодинаковый эффект ацидотического состояния на процессы деаминирования различных аминокислот. Если аммиакообразование из глутаминовой и аспарагиновой кислот при ацидозе стимулируется в значительной степени, то деаминирование орнитина при этом не изменяется. При ацидозе наблюдается также повышение продукции аммиака из нуклеотидов: АМФ и НАД.

При экспериментальном алкалозе (табл. 3) в срезах коркового слоя почек белых крыс отмечается значительное понижение продукции свободного аммиака как из глутамина, так и из L-аминокислот. Интересно отметить, что в отличие от ацидотического состояния при алкалозе подавляется деаминирование всех трех изученных нами аминокислот, что особенно выражено в отношении глутаминовой кислоты и орнитина. При алкалозе в наших опытах обнаружено неодинаковое изменение интенсивности аммиакообразования из нуклеотидов: продукция свободного аммиака из НАД подавляется, между тем как выход его из АМФ даже несколько усиливается, как это отмечалось и при ацидозе.

Таким образом, проведенные исследования показали, что при нарушении кислотно-щелочного равновесия организма наряду с изменением скорости деамидирования глутамина (что наблюдалось и другими исследователями) происходят также заметные сдвиги в скорости деа-

Таблица 3:

Влияние метаболического алкалоза на образование аммиака из некоторых L-аминокислот и нуклеотидов в срезах коркового слоя почек белых крыс (прирост аммиака в мкмольях/г ткани/ч.)

Аминокислоты и нуклеотиды	Норма	Алкалоз	% изменения
Глютаминовая кислота	$5,1 \pm 0,41$ (8)	$3,1 \pm 0,3$ (8)	-40
Аспарагиновая кислота	$8,5 \pm 0,74$ (8)	$7,0 \pm 0,37$ (8)	-17,6
Орнитин	$10,5 \pm 0,74$ (8)	$5,8 \pm 0,33$ (8)	-44,8
Глютамин	$26,6 \pm 1,09$ (8)	$21,5 \pm 0,96$ (8)	-19,2
АМФ	$12,2 \pm 0,53$ (7)	$13,6 \pm 0,55$ (7)	+11,5
НАД	$3,2 \pm 0,5$ (7)	$2,3 \pm 0,3$ (7)	-28,1
Содержание аммиака в инкубированных контролях	$8,6 \pm 0,01$	$7,5 \pm 0,14$	—

минирования L-аминокислот в коре почек белых крыс. Как указывалось выше, при ацидозе повышается активность глутаминазы I, что приводит к усилению образования аммиака из глутамината. По нашим данным, вместе с этим при ацидозе также повышается активность глутамат-дегидрогеназы, осуществляющей деаминирование глутаминовой кислоты. Подобное явление наблюдается и в отношении фермента, принимающего участие в деаминировании аспарагиновой кислоты. В отношении орнитина было установлено, что деаминирование этой аминокислоты при ацидозе не изменяется, в то время как при алкалозе наблюдается выраженное подавление этого процесса. Как видно, фермент, деаминирующий орнитин, проявляет высокую чувствительность к алкалозу и устойчив к воздействию ацидоза. Эти данные поддерживают высказанное нами ранее мнение о существовании отдельного фермента (возможно, ферментной системы), принимающего участие в процессах деаминирования орнитина.

При изменении кислотно-щелочного равновесия организм мобилизует внутренние ресурсы для сохранения гомеостаза. Наблюдаемые изменения в процессах аммиакообразования из различных источников являются одним из проявлений защитной функции почек. Известно, что аммиак принимает участие в нейтрализации кислот. Усиление продукции аммиака путем повышения активности ферментов, участвующих в процессах аммиакообразования, представляется защитной реакцией организма в борьбе против ацидоза. Наоборот, на понижение кислотности внутренних жидкостей организм реагирует понижением продукции аммиака путем снижения активности соответствующих ферментных систем. Каковы механизмы, лежащие в основе этих сдвигов? В отношении регуляции активности глутаминазы, как указывалось, определенную роль играет концентрация глутаминовой кислоты в почечной ткани. Что касается скорости деаминирования L-аминокислот, то надо пола-

гать, что в ее изменении, возможно, сказывается влияние различных коферментов, содержание которых в почечной ткани может колебаться в зависимости от метаболического состояния организма. С этой точки зрения большой интерес представляют исследования Преусса [12, 13], установившего повышение в почках при ацидозе концентрации окисленных пиридиннуклеотидов. Этот факт в некоторой степени может объяснить ускорение образования аммиака из глутаминовой кислоты по глутамат-депидрогеназному пути, а также из глутамина в результате понижения содержания глутамата, являющегося ингибитором глутаминазы 1. Немалый интерес представляет механизм изменения активности ферментов, осуществляющих деаминирование аспарагиновой кислоты и особенно орнитина при различных метаболических состояниях организма. Как показывают вышеприведенные данные, изменения, наблюдаемые в процессах аммиакообразования из L-аминокислот в корковом слое почек при нарушении кислотно-щелочного равновесия организма, носят более выраженный характер по сравнению с глутамином. Имея в виду результаты этих исследований, а также литературные данные, можно предполагать, что в изменениях количества выделяемого с мочой аммиака при нарушении кислотно-щелочного состояния организма значительную роль играют также изменения скорости процессов деаминирования L-аминокислот. Исследования в этом направлении продолжаются.

Институт биохимии АН Арм. ССР

Поступила 11/І 1972 г.

Ա. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Լ. Ա. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

ՍՊԻՏԱԿ ԱՌՆՆՏՆԵՐԻ ԵՐԻԿԱՄՆԵՐԻ ԿԵՂԵՎԱՅԻՆ ՇԵՐՏՈՒՄ ԱՄԻԱԿԻ ԱՌԱՋԱՑՄԱՆ ՀԱՐՑԻ ՇՈՒՐՋԸ ՕՐԳԱՆԻԶՄԻ ՏԱՐԲԵՐ ՄԵՏԱԲՈԼԻԿ ՎԻՃԱԿՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է փորձարարական ացիդոզի և ալկալոզի ժամանակ առնետների երիկամների կեղևային շերտում ազատ ամիակի առաջացման վրա որոշ L-ամինաթթուների (գլյուտամինաթթու, ասպարգինաթթու, օրնիտին), գլյուտամինի, ԱՄՖ-ի և ՆԱԴ-ի ազդեցությունը: Ցույց է տրվել, որ ացիդոզի դեպքում ուժեղանում է ամիակի առաջացումը ինչպես գլյուտամինից, այնպես էլ գլյուտամինաթթվից, ասպարգինաթթվից, ԱՄՖ-ից և ՆԱԴ-ից: Ամիակի առաջացումը օրնիտինից չի փոփոխվում: Ալկալոզի ժամանակ զգալիորեն ընկճվում է ամիակի առաջացումը նշված ամինաթթուներից և ՆԱԴ-ից, իսկ ԱՄՖ-ից նկատվում է ամիակի առաջացման ուժեղացում, ինչպես այդ տեղի ունեւր ացիդոզի ժամանակ: Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ ացիդոզի դեպքում նկատվող ամիակի առաջացման ուժեղացման պրոցեսներում կարեւոր դեր են խաղում նաև L-ամինաթթուների դեամինացման պրոցեսներին մասնակցող ֆերմենտները: Մյուս կողմից, L-օրնիտինից ամիակի առաջացման

սրտցանների փոփոխության բացակայությունը ացիդոզի դեպքում, հաստատում է նախկինում մեր կողմից արտահայտված այն կարծիքը, որ օրնիտինը երիկամների կեղևում դեամինացվում է ոչ թե տրանսամինացման ճանապարհով, այլ առանձին ֆերմենտով:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бунятян Г. Х., Оганесян А. С., Геворкян Ж. С. ДАН СССР, 1967, 177, стр. 951.
2. Churchill P. C., Malvin R. L. Amer. J. Physiol., 218, 353, 1970.
3. Davies B. M., Yudkin J. Biochem. J., 52, 407, 1952.
4. Goldstein L. Amer. J. Physiol., 210, 661, 1966.
5. Goldstein L., Copenhaver J. H. Amer. J. Physiol., 198, 227, 1960.
6. Goldstein L., Schooler J. Feder. Proc., 24, 582, 1965.
7. Goodman A. D., Fulsz R. F., Cahill G. F. J. Clin. Invest., 45, 612, 1966.
8. Goorno W. E., Rector F. C., Seldin D. W. Amer. J. Physiol., 213, 969, 1967.
9. Kamm D. E., Fulsz R. E., Goodman A. D., Cahill G. F. J. Clin. Invest., 46, 1172, 1967.
10. Lotspeich W. D. Science, 155, 1066, 1967.
11. Owen E., Robinson R. Clin. Invest., 42, 263, 1963.
12. Preuss H. J. Nephron, 6, 235, 1969.
13. Preuss H. J. Amer. J. Physiol., 220, 54, 1971.
14. Rector F. C., Orloff J. J. Clin. Invest., 38, 366, 1959.
15. Rector F. C., Seldin D. W., Copenhaver J. H. J. Clin. Invest., 34, 20, 1955.
16. Sayre F. W., Roberts E. J. Biol. Chem., 233, 1128, 1958.
17. Stetner A. S., Goodman A. D., Treble D. H. Amer. J. Physiol., 215, 211, 1968..