

Л. А. АРУТЮНЯН

ОБРАЗОВАНИЕ АММИАКА ИЗ АМИНОКИСЛОТ В ПОЧЕЧНОЙ ТКАНИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОЧЕЧНОКАМЕННОМ СИНДРОМЕ

На экспериментальной модели почечнокаменного синдрома, вызванного воздействием этиленгликоля, изучали образование свободного аммиака в срезах коркового слоя почек из глутамата, аспартата, орнитина и в срезах обоих слоев почек—из глутаминна. Обнаружено повышение скорости аммиакообразования из изученных соединений, особенно из аспартата, в начальной стадии заболевания и выраженное ее снижение при переходе в хроническую форму. Изменение интенсивности деамидирования глутаминна заметнее в корковом слое почек.

Клинические наблюдения при отравлениях антифризами показали, что первоначальные их проявления в виде нарушения сердечно-сосудистой и центральной нервной систем в дальнейшем сменяются острой почечной недостаточностью, морфологическим субстратом которой является некротическое поражение почек при наличии отложения кристаллов оксалатов в почечной паренхиме [3, 21]. Поскольку основной составной частью антифризов является простой двухатомный спирт этиленгликоль ($\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), последний привлек внимание исследователей как агент для создания экспериментальной модели почечнокаменного синдрома.

Известно, что образующаяся при окислении этиленгликоля в организме гликолевая кислота под действием содержащегося в печени флавопротеида—оксидазы гликолевой кислоты—превращается в глиоксиловую кислоту [13]. При введении животным глиоксиловой кислоты было обнаружено повышение содержания в почечной ткани солей щавелевой кислоты и увеличение их экскреции с мочой [18]. Установлено, что уже через 48 часов после введения этиленгликоля в почечных эпителиальных клетках появляются кристаллы оксалатов [12]; продолжение его введения приводит к росту содержания кристаллов, сопровождающемуся поражением почечной ткани в виде десквамации эпителия, изменения базальных мембран и интерстициального отека [10]. К нефротоксическому действию этиленгликоля восприимчивее крысы-самцы в связи с более высоким уровнем печеночной оксидазы гликолевой кислоты и большей скоростью превращения последней в щавелевую кислоту

[19]. Показано, что эстрадиол способствует ускорению отложения оксалатов, а тироксин и триамсинолон ослабляют этот процесс [21].

Биохимические сдвиги в почечной ткани при этиленгликолевом литиазе изучены слабо. Имеются лишь некоторые сведения о повышении активности отдельных ферментов в сыворотке крови и усилении их экскреции, коррелирующих со скоростью распада этиленгликоля в организме животных [15, 17]. Проведенными патоморфологическими и клиническими исследованиями обосновано использование этиленгликолевой модели для изучения обменных нарушений при почечном литиазе. Так, обнаружение в подобных экспериментах гипооксалурической способности сукцинимидов способствовало его применению при лечении оксалатного литиаза [18]. Вместе с тем, исследования, проведенные в нашей лаборатории на почках больных, страдающих почечнокаменной болезнью, показали изменение скорости аминокислотного обмена в почечной ткани при хроническом калькулезном пиелонефрите [5]. При использовании этиленгликолевой модели литиаза представляется возможность исследования ранних сдвигов в метаболизме почек и их развития на протяжении этой патологии, что может иметь не только теоретическое, но и практическое значение.

Исходя из этих соображений, мы изучали состояние аминокислотного обмена в почках белых крыс в различные сроки после хронического введения этиленгликоля. В настоящей работе приведены результаты опытов по изучению процессов образования аммиака из некоторых аминокислот в почках при этиленгликолевом литиазе.

Материал и методика

Опыты проводили на белых крысах-самцах, которые содержались на обычном рационе; при замене питьевой воды 1% раствором этиленгликоля. Через 7 и 45 суток после начала приема этиленгликоля животных забивали декапитацией и в срезах коркового слоя почек (200 мг) определяли скорость аммиакообразования из глутамата, аспартата, орнитина и глутамина (по 16 мкМ на пробу); деамидирование глутамина определяли также в срезах мозгового слоя почек.

Одновременно изучали динамику некоторых биохимических показателей сыворотки крови и мочи на соответствующих стадиях заболевания.

Оксалаты в моче определяли следующим методом: профильтрованную мочу центрифугировали, к супернатанту добавляли несколько капель 0,1 М раствора CaCl_2 , нейтрализовали раствором NaOH , вновь центрифугировали при 10 000 g в течение 10 мин, после чего производили микроскопию осадка [15].

Результаты и обсуждение

Развитие оксалатного литиаза при экспериментальной этиленгликолевой модели подтверждалось нарастанием содержания характерных

кристаллов оксалатов в осадке мочи подопытных животных по мере прогрессирования патологии. На поздних стадиях обнаруживалось появление небольшой протеинурии, в некоторых случаях—заметной гематурии.

Изучение скорости образования свободного аммиака в срезах коркового слоя почек (табл. 1) показало, что в конце первой недели интен-

Таблица 1

Образование аммиака из аминокислот и глутамина в срезах почек белых крыс при этиленгликолевом литиазе
(средние данные 6 опытов)

Сроки заболевания	Прирост аммиака, $\mu\text{M}/\text{г}$ ткани/час				
	корковый слой				мозговой слой
	глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин	глутамин	глутамин
Контроль	$6,6 \pm 0,3$	$9,9 \pm 0,4$	$12,6 \pm 0,4$	$30,9 \pm 0,8$	$19,8 \pm 0,6$
7 суток	$7,5 \pm 0,3$ $P < 0,1$	$13,4 \pm 0,5$ $P < 0,005$	$14,3 \pm 0,7$ $P < 0,1$	$36,5 \pm 0,5$ $P < 0,005$	$22,9 \pm 0,6$ $P < 0,025$
45 суток	$2,7 \pm 0,3$ $P < 0,001$	$5,7 \pm 0,5$ $P < 0,005$	$6,9 \pm 0,5$ $P < 0,001$	$25,7 \pm 0,9$ $P < 0,01$	$17,7 \pm 0,9$ $P < 0,1$

Примечание. P—по сравнению с контрольной группой

сивность деаминирования аминокислот, особенно аспартата, несколько повышается; деамидирование глутамина также усиливается в обоих слоях почек. В дальнейшем, при переходе заболевания в хроническую форму, обнаружено выраженное уменьшение скорости образования ам-

Таблица 2

Содержание мочевины в сыворотке крови белых крыс при этиленгликолевом литиазе

Сроки заболевания	Мочевина, $\text{мг}\%$
Контроль	$39,7 \pm 1,3$ (12)
7 суток	$54,2 \pm 1,5$ (15) $P < 0,001$
45 суток	$55,3 \pm 1,6$ (11) $P < 0,001$

миака из аминокислот и некоторое снижение его выхода из глутамина в коре почек. В сыворотке крови подопытных животных (табл. 2) отмечено заметное и стойкое повышение содержания мочевины.

На начальных стадиях развития гипероксалурии обнаружено усиление экскреции натрия и калия, в более поздние сроки—некоторое повышение в моче уровня фосфатов и мочевины. Выраженное усиление экскреции аммиака с мочой наблюдается на всех стадиях эксперимента (табл. 3).

В проведенных нами опытах начальная стадия этиленгликолевого литиаза характеризовалась повышением скорости аммиакообразования в почечной ткани. Можно полагать, что это явление отражает адаптив-

Таблица 3

Динамика некоторых биохимических показателей мочи белых крыс при экспериментальном литиазе

Сроки заболевания	Аммиак мкМ/24 ч.	Мочевина г/24 ч.	Фосфаты мг/24 ч.
Контроль	70,8±5,1 (10)	0,17±0,015 (9)	0,82±0,07 (11)
7 суток	121,4±7,0 (16) P<0,001	0,16±0,008 (12)	1,30±0,06 (16) P<0,001
45 суток	184,0±16,6 (10) P<0,001	0,24±0,021 (8) P<0,05	1,44±0,12 (8) P<0,005

ную реакцию почечной ткани на развитие патологического процесса; в пользу такого предположения свидетельствуют данные о том, что на выключение деятельности пораженных нефронов почки реагируют повышением функциональной активности интактных нефронов [20]. Обнаруженное при различных формах экспериментальной почечной недостаточности снижение общего аминокислота в почках также указывает на усиление в них скорости обмена аминокислот [4]. По-видимому, развитие подобной реакции в отношении ферментов, осуществляющих деаминирование аминокислот в почечной ткани, направлено на усиление утилизации последних с целью поддержания энергетических затрат почек в условиях патологии. В дальнейшем, по мере распространения и углубления деструктивных изменений в почках, процессы деаминирования аминокислот в них ослабевают, причем деаминирующая способность почек, хотя и на низком уровне, проявляется и в хронической стадии болезни. Полученные нами результаты в этом отношении согласуются с данными о сохранении активности оксидаз аминокислот даже в сморщенной почке людей [8].

На поздних стадиях литиаза, по нашим данным, происходит некоторое снижение активности почечной глутаминазы, что наблюдалось и при других формах экспериментальной патологии почек [9]. Следует, однако, отметить, что даже в этих условиях из глутамин продуцируется значительное количество свободного аммиака. Сохранение глутаминазной активности в почечной ткани было обнаружено и в терми-

нальной стадии калькулезного пиелонефрита у людей при полном подавлении функции почек [5].

В проведенных нами опытах развитие литиаза сопровождалось повышением экскреции аммиака с мочой, что, однако, не коррелирует со снижением интенсивности аммиакообразовательных реакций в почках. Клинические исследования показывают снижение при пиелонефрите, и именно в его хронических формах, уровня аммиака, выводимого из организма [1, 5, 7]. Можно полагать, что при этиленгликолевом литиазе, в частности на изученных нами стадиях, усиление экскреции аммиака происходит и за счет внепочечных его источников. В этой связи отметим полученные нами результаты о значительном повышении уровня мочевины в сыворотке крови, согласующиеся с данными других авторов [11]. При хроническом пиелонефрите показано снижение концентрационной способности почек в отношении мочевины, связанное с такими факторами, как понижение проницаемости канальцевого аппарата, изменение нормального течения процессов ее диффузии из собирательных трубок в интерстициальную жидкость и др. [14]. В наших опытах экскреция мочевины на поздних стадиях оказывается даже несколько повышенной. Исходя из этого, повышение содержания мочевины в сыворотке крови мы склонны связывать не столько с нарушением процессов ее выведения, сколько с усилением ее синтеза; по-видимому, под действием этиленгликоля происходит усиление катаболизма белков, приводящее к повышению концентрации мочевины в сыворотке крови. Не исключено, что определенную роль при этом может также играть снижение активности расщепляющих мочевину ферментов, что наблюдается при хроническом поражении почек [22].

Проведенные исследования показали, что экспериментальная гипероксалурия сопровождается повышением экскреции ионов натрия, что, возможно, является результатом снижения канальцевой реабсорбции; факт одновременного повышения экскреции калия позволяет полагать, что нарушение локализуется в проксимальном отделе нефрона [2]. Обнаруженное повышение уровня фосфатов в моче можно связать с нарушением их реабсорбции, что также имеет место в проксимальных участках нефрона [16], или с повышением фосфатазной активности почечной ткани [6].

Таким образом, использование экспериментальной модели почечно-го литиаза позволило обнаружить повышение интенсивности процессов аммиакообразования в почечной ткани на ранних стадиях патологии, очевидно, как компенсаторной реакции почек; дальнейшее развитие заболевания в значительной степени истощает резервные возможности почек в отношении утилизации добавленных аминокислот, хотя при этом еще сохраняется способность усиленной экскреции аммиака.

ԵՐԻԿԱՄՆԵՐՈՒՄ ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ԱԽՏԱՐԱՆՈՒԹՅԱՆ
ԶԱՆԱԶԱՆ ՁԵՎԵՐԻ ԺԱՄԱՆԱԿ ԱՄԻՆԱԹՈՒՆԵՐԻ ՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ
ՀԱՐՑԻ ՇՈՒՐՋԸ

1. ԱՄԻԱԿ ԱՌԱՋԱՑՈՒՄԸ ԱՄԻՆԱԹՈՒՆԵՐԻՑ ՍՊԻՏԱԿ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ
ԵՐԻԿԱՄՍՅԱՆ ԶՅՈՒՍՎԱԾՔՈՒՄ ԵՐԻԿԱՄԻ ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ
ՔԱՐԱՅԻՆ ՍԻՆԴՐՈՄԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Երիկամի փորձարարական քարային սինդրոմի ժամանակ, որն առաջացվել է էթիլենգլիկոլի ազդեցությամբ, ուսումնասիրվել է ազատ ամիակի առաջացումը երիկամի կեղևի կտրվածքներում գլյուտամինաթթվից, ասպարգինաթթվից, օրնիտինից և երիկամի երկու շերտերում՝ գլյուտամինից:

Հայտնաբերվել է ամիակի առաջացման ինտենսիվության բարձրացում վերոհիշյալ միացություններից, հատկապես ասպարգինաթթվից, հիվանդության սկզբնական շրջանում և արտահայտված իջեցում խրոնիկ ձևին անցնելու ժամանակ, որն ավելի ցայտուն է ամինաթթուների նկատմամբ: Գլյուտամինի դեամիդացման ինտենսիվության փոփոխությունները ավելի նկատելի են երիկամի կեղևային շերտում:

L. A. HAROUTYUNIAN

ON AMINO-ACID METABOLISM IN KIDNEY IN DIFFERENT
FORMS OF EXPERIMENTAL RENAL PATHOLOGY

1. THE AMMONIA FORMATION IN RAT KIDNEY TISSUE IN EXPERIMENTAL
NEPHROLITHIASIS

In experimental nephrolithiasis, produced by ethylene glycol administration, an initial rise of ammonia formation from aminoacids (especially from aspartate), glutamine and amino-acids has been shown. The formation of ammonia from glutamine and amino-acids is particularly decreased in following chronic treatment by ethylene glycol.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Езданян Э. А. Ж. эксперим. и клин. мед. АН Арм. ССР, 1973, 2, 46.
2. Ермакова И. П. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1972, 7, 31.
3. Каньшина Н. Ф., Даровский Б. М. Урол. и нефрол., 1969, 2, 51.
4. Мазурин В. Я. Урол. и нефрол., 1972, 4, 35.
5. Мидоян А. А., Оганесян А. С., Чобанян К. А. Ж. эксперим. и клин. мед. АН Арм. ССР, 1975, 1, 56.
6. Ненов Д., Ангелов А., Шипков Т. Урол. и нефрол., 1972, 5, стр. 4.
7. Овезов Б. О. Урол. и нефрол., 1968, 8, 3.
8. Чудновская М. В., Яненко Э. К., Нефедова Н. С. Урол. и нефрол., 1973, 8, 4.
9. Akasawa Y. Jap. J. Urol., 1971, 360, 62.
10. David H., Uerlings I. Beitr. path. anat., 1968, 284, 136.
11. Debray Ch., Vaille Ch., Frieher A. et al. J. Physiol., 1964, 707, 56.

12. *Fonck-Cussac Y., Cuvelier L. A., Fonck J., Delage J.* Ann. anat. pathol., 1971, 16, 153.
13. *Gessner P. K., Parke D. V., Williams R. T.* Biochem. J., 1961, 482, 79.
14. *Gilbert R. M., Weber H., Turchin L. et al.* J. Clin. Invest., 1976, 58, 1348.
15. *Kirschbaum B. B., Bosmann H. B.* Chem. biol. interact., 1974, 207, 8.
16. *Lang F., Greger R., Marchand G., Knox F.* Pflügers Arch., 1977, 368, 45.
17. *Macarie O.* Stud. si cerc. biochem., 1973, 377, 16.
18. *Melon J. M., Thomas J., Pierre R.* Therapie, 1971, 991, 26.
19. *Richardson K. E.* Endocrinology, 1964, 128, 74.
20. *Schultze R. G., Shapiro H. S., Bricker N. S. J.* Clin. Invest., 1969, 48, 869.
21. *Szablowska M., Selye H.* Arch. environ. health., 1971, 23, 13.
22. *Walser M. J.* Clin. Invest., 1974, 53, 1385.