

УДК 616.61—018 : 612.015.347

А. А. МИДОЯН, Ж. С. ГЕВОРКЯН, Ф. А. ОГАНЯН, А. С. ОГАНЕСЯН

ВЛИЯНИЕ АТФ НА СВЯЗЫВАНИЕ АММИАКА В ПОЧЕЧНОЙ ТКАНИ ПРИ ЕЕ ПАТОЛОГИИ

Показано, что связывание аммиака в почечной ткани с образованием глутамина и амидных групп белков при ее патологии значительно снижается. При этом АТФ, способствуя связыванию аммиака, приводит к его нейтрализации как в корковом, так и в мозговом слое почек.

Известно, что при патологических состояниях печени и почек наблюдается повышение содержания аммиака в крови и тканях.

Одним из важных путей нейтрализации аммиака является связывание его с образованием глутамина и амидных групп белков. Мы задались целью изучить интенсивность этих процессов в корковом и мозговом слоях почек у здоровых и больных (экспериментальный нефрит) белых крыс, а также в резецированной почечной ткани и в ткани удаленных нефункционирующих почек человека. Учитывая, что синтез глутамина и амидных групп белков сопровождается расходом энергии [3, 6, 7], мы изучали также влияние АТФ на интенсивность течения этих процессов.

Материал и методы

Почечную ткань (срезы 100 мг) инкубировали в Кребс-Рингер-бикарбонатном буфере (2 мл, рН-7,4) в атмосфере кислорода и углекислого газа (95 и 5% соответственно) в течение 60 мин при 37° в присутствии аммиака (0,15 мг на пробу в виде хлористого аммония) и АТФ (2 мг на пробу). После инкубации почечную ткань гомогенизировали в инкубационной среде, белки осаждали трихлоруксусной кислотой, центрифугировали и определяли в надосадочной жидкости содержание глутамина по приросту амидного азота микродиффузионным методом по Сопуэй [8], а в осадке—амидных групп белков по А. А. Кричевской [4]. Содержание АТФ определяли по UV-тесту с использованием соответствующего набора реактивов (Boehringer). Экспериментальный нефрит вызывали путем подкожного введения малеиновой кислоты (300 мг/кг живого веса). В опыт брали животных, у которых наблюдались выраженные признаки нефрита—снижение фильтрационной способности почек, повышение содержания мочевины в крови и появление белка в моче (табл. 1).

Таблица 1

Показатели экспериментального нефрита

Показатели	Здоровые крысы	Больные крысы
Величина фильтрации (в мл/мин)	$2,6 \pm 0,3$	$1,4 \pm 0,2$
Содержание мочевины в крови (в мг%)	$35,0 \pm 4,5$	$95,0 \pm 11,3$
Содержание белка в моче (в %)	следы	$0,6 \pm 0,2$

Результаты и обсуждение

Как видно из приведенных в табл. 2 данных, содержание эндогенного глутаминна в корковом слое почек у здоровых животных примерно в два раза выше, чем в мозговом. После инкубации за счет эндогенных ресурсов концентрация этого соединения значительно возрастает в корковом слое—на 200%, а в мозговом—всего на 46%. Образование глутаминна за счет добавленного аммиака в корковом слое протекает более интенсивно по сравнению с мозговым. Добавление АТФ как отдельно, так и в сочетании с аммиаком приводит к дальнейшему усилению связывания аммиака в обоих слоях почек.

Как видно из табл. 2, при экспериментальном нефрите в результате поражения почечной ткани синтез глутаминна и связывание аммиака подавляются. В корковом слое почек больных животных содержание эндогенного глутаминна ниже, чем у здоровых. После инкубации содержание глутаминна в корковом слое почек возрастает, не доходя до уровня, наблюдаемого у здоровых животных. Интересно отметить, что в мозговом слое почек больных и здоровых животных содержание глутаминна до и после инкубации не претерпевает заметных изменений. При добавлении АТФ как в корковом, так и в мозговом слое почек больных животных наблюдается выраженное стимулирование синтеза глутаминна, особенно в корковом слое. Следует отметить, что синтез глутаминна в обоих слоях почек при добавлении аммиака у больных животных по сравнению со здоровыми протекает менее интенсивно. По-видимому, это связано с низким энергетическим уровнем почечной ткани. В этих условиях добавление АТФ приводит к значительному усилению синтеза глутаминна.

При экспериментальном нефрите отмечается снижение содержания амидных групп белков почечной ткани (корковый слой), добавление АТФ приводит к некоторому повышению их содержания. У здоровых животных это явление менее выражено. В ходе инкубации как у здоровых, так и у больных животных без добавления АТФ содержание амидных групп белков почти не изменяется (табл. 3).

Результаты исследований, проведенных с патологически измененной почечной тканью человека, показали, что в резецированной ткани содержание глутаминна в корковом слое выше по сравнению с мозговым. Добавление АТФ отдельно и с аммиаком приводит к усилению синтеза глутаминна в обоих слоях почек, что в более выраженной форме проявляется в корковом слое. В ткани нефункционирующих почек, где имеются сильно выраженные морфологические изменения, содержание эн-

догепяного глутамина крайне низкое в обоих слоях почек и не претерпевает изменений в ходе инкубации при добавлении АТФ и аммиака (табл. 2).

Таблица 2
Содержание глутамина в здоровой и пораженной почечной ткани в мкМ/г ткани (средние данные 6 опытов)

Условия опыта	Корковый слой	Мозговой слой
Здоровые крысы		
До инкубации	2,2±0,3	1,3±0,2
После инкубации	6,6±0,5	1,9±0,3
Инкубация с аммиаком	9,8±0,9	2,8±0,3
с АТФ	11,8±1,4	8,3±1,2
с АТФ+аммиак	15,2±1,0	11,6±1,2
Экспериментальный нефрит		
До инкубации	1,5±0,2	1,2±0,2
После инкубации	2,8±0,3	1,7±0,2
Инкубация с аммиаком	3,8±0,4	2,2±0,3
с АТФ	10,1±1,2	5,8±0,6
с АТФ+аммиак	13,7±1,0	9,7±1,1
Резецированная почечная ткань человека		
До инкубации	1,4±0,2	0,9±0,1
После инкубации	2,3±0,3	1,1±0,2
Инкубация с аммиаком	2,5±0,2	1,5±0,1
с АТФ	6,7±0,5	5,2±0,5
с АТФ+аммиак	10,6±0,9	7,8±0,8
Ткань нефункционирующей почки человека		
До инкубации	0,4±0,1	0,3±0,1
После инкубации	0,5±0,1	0,4±0,1
Инкубация с аммиаком	0,7±0,1	0,6±0,1
с АТФ	0,7±0,2	0,6±0,2
с АТФ+аммиак	0,9±0,3	0,8±0,3

Из данных, приведенных в табл. 4, видно, что содержание АТФ в почечной ткани как при экспериментальном нефрите, так и при нефрите у людей довольно низкое, что свидетельствует о нарушении окислительных процессов и, в частности, окислительного фосфорилирования.

Как показывают вышеприведенные данные, в пораженной почечной ткани по сравнению со здоровой процессы нейтрализации аммиака протекают на достаточно низком уровне. Добавленный АТФ стимулирует связывание аммиака с образованием глутамина как у здоровых, так и у больных животных, что особенно выражено в корковом слое почек здоровых животных. Что касается амидных групп белков, то нужно отметить, что в присутствии АТФ стимулируется их синтез только в патологически измененной почечной ткани, где исходный уровень их низкий. У здоровых животных этого стимулирования не наблюдается.

Как было показано, при нефрите содержание эндогенного АТФ снижено, что, возможно, является причиной низкой интенсивности связывания аммиака в почках.

Особый интерес представляют результаты исследований, проведенных с патологически измененной почечной тканью людей, когда наряду с повышением содержания мочевины наблюдается также возрастание аммиака в крови и тканях [9]. В этих условиях процессы связывания ам-

Таблица 3
Содержание амидных групп белков в корковом слое здоровой и пораженной почечной ткани (средние данные 5 опытов)

Условия опыта	Амидный азот в мг%
Здоровые крысы	
До инкубации	98,0±7,5
После инкубации	100,0±9,4
Инкубация с аммиаком	105,0±9,0
" с АТФ	105,0±8,7
" с АТФ+аммиак	105,0±8,4
Экспериментальный нефрит	
До инкубации	71,0±6,5
После инкубации	75,0±7,4
Инкубация с аммиаком	75,0±8,9
" с АТФ	87,0±9,5
" с АТФ+аммиак	93,0±9,0
Резецированная почечная ткань человека	
До инкубации	66,0±5,2
После инкубации	70,0±6,5
Инкубация с аммиаком	72,0±7,0
" с АТФ	89,0±7,8
" с АТФ+аммиак	95,0±8,4

Таблица 4
Содержание АТФ в отдельных слоях здоровых и пораженных почек в мкМ/г ткани (средние данные 4 опытов)

Условия опыта	Корковый слой	Мозговой слой
Здоровые крысы	0,4 ±0,05	0,22±0,03
Экспериментальный нефрит	0,25±0,03	0,15±0,03
Резецированная почечная ткань человека	0,26±0,03	0,15±0,02
Ткань нефункционирующей почки человека	0,1 ±0,02	0,1 ±0,02

миака в почечной ткани подавлены, особенно при выраженных морфологических изменениях (нефункционирующие почки). Как у животных,

так и у людей при умеренной выраженности метаболических нарушений и морфологических изменений почечной ткани (резецированная почечная ткань и ранние стадии экспериментального нефрита) связывание аммиака при добавлении АТФ в значительной мере возрастает. Этого не наблюдается при сильно выраженных метаболических нарушениях. Наши исследования показывают, что мозговой слой почек как у животных, так и у человека также обладает способностью связывать значительное количество аммиака, однако в связи с низким содержанием АТФ эти процессы здесь протекают менее интенсивно по сравнению с корковым слоем.

По данным одних авторов [3, 6], при возбуждении нервной системы отмечалось значительное снижение содержания амидных групп белков, по данным других [1, 2], в ходе инкубации мозговой ткани при добавлении источников энергии (АТФ, глюкоза) содержание глутамина и амидных групп белков возрастает. В наших исследованиях после часовой инкубации срезов почек в аэробных условиях даже без добавления АТФ или других источников энергии наблюдается выраженное усиление образования глутамина в здоровой почечной ткани, особенно в корковом слое. В этих условиях содержание АТФ в течение всего опыта сохраняется на высоком уровне [5], что сопровождается усилением окисления эндогенных аминокислот (особенно глутаминовой и аспарагиновой), которые являются хорошими субстратами окисления в корковом слое почек. По всей вероятности, с этим и связано усиление синтеза глутамина в корковом слое почек. Интересно отметить отсутствие регуляции процесса синтеза глутамина в почечной ткани в условиях *in vitro* при сопоставлении с условиями *in vivo*, когда поддерживается гомеостаз этого соединения в живом организме. Не исключена возможность, что при поражении почек нейтрализация аммиака в живом организме нарушается и в других органах, в частности в печени (синтез мочевины, глутамина и др.).

Результаты наших исследований дают основание рекомендовать применение АТФ вместе с другими лечебными мероприятиями в клинической практике при патологических состояниях некоторых органов (печень, почки), приводящих к азотемии. Предварительные наблюдения в урологической клинике Ереванского медицинского института показали благотворное действие этого препарата при лечении нефритов.

Институт биохимии
АН Арм ССР

Поступила 22/II 1985 г.

Ա. Ա. ՄԻԿՅԱՆ, Ժ. Ս. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Յ. Հ. ՕՋԱՆՅԱՆ, Ա. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

ԱՎԵՆՈՋԻՆՏԻՑԻՑՈՍՅԱՏԻ ԱԶՆԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՐԻԿԱՄԱՅԻՆ ՀՅՈՒՍՎԱՄՔՈՒՄ
ԱՄՈՆԻԱԿԻ ԿԱՊԿԵԼՈՒ ՊՐՈՑԵՍՄԻ ՎՐԱ ԵՐԻԿԱՄԻ ՊԱԹՈԼՈԳԻԱՅԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Փորձերը դրվել են առողջ և էքսպերիմենտալ նեֆրիտով հիվանդ սպիտակ առնետների ու մարդու հիվանդ երիկամային հյուսվածքի վրա: Ուսումնասիրվել է ամոնիակի կապվելու պրոցեսը երիկամային հյուսվածքում:

Ցույց է տրվել, որ ինչպես հիվանդ կենդանիների, նույնպես և մարդու

հիվանդ երիկամային հյուսվածքում ամոնիակի կապվելու պրոցեսը գլխուտամինի և սպիտակուցների ամիդ խմբերի ձևով զգալիորեն ընկճվում է: Ադենոզինատրի-ֆոսֆատը զգալի շափով խթանում է այդ պրոցեսները երիկամի ինչպես միջուկային, այնպես էլ կեղևային շերտերում:

A. A. MIDOYAN, J. S. GEVORKIAN, Ph. H. OHANIAN, A. S. HOVANESSIAN

EFFECT OF ATP ON THE BINDING OF AMMONIA IN RENAL TISSUE IN PATHOLOGY OF KIDNEYS

It is established that the binding of ammonia in the kidney tissue in case of its pathology significantly decreases. ATP, stimulating this process, promotes neutralization of ammonia in the cerebral as well as cortex layers of the kidney.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арутюнян А. В. *Вопр. биохим. мозга*, 1964, 1, с. 117.
2. Бумятян Г. Х., Арутюнян А. В. *ДАН АрмССР*, 1965, 40, (4), с. 209.
3. Гершенович Э. С., Кричевская А. А. *Биохимия*, 1960, 25, с. 210.
4. Кричевская А. А. *Журн. эвол. биохим. и физиол.*, 1963, 9, с. 206.
5. Лайта А., Шварц М., Сершен Г., Геворкян Ж. С., Оганесян А. С. *ДАН Арм ССР*, 1979, 48, (1), с. 50.
6. Мартинсон Э. Э., Тяхепильд Л. Я. *Вопр. клин. неврол. и психиатр.*, 1963, 3, с. 40.
7. Эпштейн С. Ф. В кн.: *Вопросы биохимии мышц*. Киев, 1954, с. 212.
8. Conway E. J. *Microdiffusion analysis and volumetric error*, London, 1947.
9. John H. A., Schohn D. C., Koehe C., Schmitt R. L. *Kidney Intern.*, 1983, 24, 16. 866.

УДК 616.152.21—057.2 : 577.158.52

В. Г. АМАТУНИ, М. Д. САФАРЯН, С. Б. БАБАЯН

ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И СУММАРНОЙ ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ У БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОГОРЬЯ И БАРОКАМЕРНОЙ ГИПОКСИИ

Установлено, что в процессе адаптации к высокогорью усиливается перекисное окисление липидов (ПОЛ) при повышении антиокислительной активности. Исследования барокамерной гипоксии показали увеличение ПОЛ при нормальной или сниженной пероксидазной активности. Полученные результаты помогают изысканию наиболее приемлемых путей к регулированию процессов ПОЛ при высотной адаптации и повышению резистентности к гипоксии.

Вопрос о механизмах адаптации к высотной гипоксии неоднократно освещался в литературе [2, 5, 6, 9, 12, 13]. В последние годы всесторонне обсуждаются метаболические механизмы адаптации к гипоксии, как и другим стрессовым ситуациям, включая участие процессов свободнорадикального окисления и антрадикальной защиты. Свободнорадикальное окисление является физиологическим процессом, участвующим в окислении ненасыщенных жирных кислот фосфолипидов, регуляции проницаемости клеточных мембран, в фаго- и пиноцитозе [8, 14]. Работами Samuelsson [15] показана роль перекисей липидов как промежуточных соединений в биосинтезе простагландинов, лейкотриенов и