

УДК 591.1.05

ДЕАМИНИРОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ L-АМИНОКИСЛОТ В СРЕЗАХ И МИТОХОНДРИЯХ КОРКОВОГО СЛОЯ ПОЧЕК БЕЛЫХ КРЫС

А. С. ОГАНЕСЯН, М. С. ЗАКАРЯН, Ж. С. ГЕВОРКЯН

Установлено, что деаминирование L-аминокислот в нитактных клетках протекает намного интенсивнее, чем в митохондриях. Эта закономерность отмечается и в отношении дыхательной способности. Возможно, в нитактных клетках наружные клеточные мембраны через определенные каналы связаны с митохондриями и в зависимости от физиологического состояния организма, посредством соответствующей информации, регулируют обмен аминокислот в них.

Ключевые слова срезы и митохондрии почечной ткани, деаминирование аминокислот.

Ранее нами было показано [2, 4], что срезы коркового слоя почек белых крыс при инкубировании в Krebs-Рингер-бикарбонатном буфере проявляют высокую способность к деаминированию ряда природных аминокислот с образованием большого количества свободного аммиака, что особенно выражено в отношении глутаминовой, аспарагиновой кислот и орнитина. Согласно существующим представлениям, преобладающее большинство аминокислот, в том числе аспарагиновая кислота и орнитин, подвергаются трансдеаминированию через систему α -кетоглутарат—глутаминовая кислота—глутаматдегидрогеназа. Однако, по нашим данным, процессы деаминирования этих аминокислот во многом отличаются друг от друга, что дает нам основание высказать предположение о существовании различных ферментов, вовлекающихся в процессы деаминирования указанных аминокислот [2, 3]. В дальнейшем возникла необходимость изучения процессов деаминирования L-глутаминовой, L-аспарагиновой кислот и L-орнитина в митохондриальной фракции клеток коркового слоя почек. Этот вопрос представляет интерес также с точки зрения выяснения роли наружных клеточных мембран в организации процессов деаминирования аминокислот в митохондриальной фракции клеток, так как установлено [5] резкое снижение интенсивности деаминирования указанных аминокислот при повреждении этих мембран.

Материал и методика. Исследования проводили в лаборатории патобиохимии Института биохимии АН АрмССР в течение 1983—84 гг. из белых крыс обоего пола массой 150—200 г. Митохондриальную фракцию коркового слоя почек получали путем дифференциального центрифугирования гомогената коркового слоя почек, приготовленного на 0,25 М растворе сахарозы по методу Шнейдера [8]. При этом брали такое количество митохондриальной фракции, которое соответствует 750 мг свежей почечной ткани. Инкубационная среда (3 мл) для митохондрий содержала: KCl—21 мМ, MgCl₂—2,5 мМ, ЭДТА—1,2 мМ, K₂HPO₄—23 мМ, Грис—33 мМ, сахароза—2,5 мМ, гексокиназа—100 ед, глюкоза—23 мМ, АТФ—0,5 мМ, янтарная кислота—9,3 мМ (рН 7,4).



Рис. Митохондрии коркового слоя почек белых крыс (электронно-микроскопическая картина после очистки).

В опытах со срезами почек в качестве инкубационной среды использовали Krebs-Рингер-бикарбонатный буфер—2 мл (рН 7,4). Инкубацию срезов и митохондрий проводили в атмосфере O_2 —95% и CO —5%, при -37° , в течение 60 мин. К каждой пробе добавляли: аминокислоты—по 16 мкМ, НАД—по 2,86 мкМ. Аммиак определяли микродиффузионным методом Конов, дыхание—на аппарате Варбурга. Чистоту митохондриальной фракции контролировали при помощи электронной микроскопии (рис.).

Результаты и обсуждение. Результаты исследований, приведенные в табл. 1, показывают, что митохондриальная фракция почечных клеток обладает более низкой активностью ферментов, осуществляющих де-

Таблица 1

Влияние НАД на интенсивность деаминации L-аминокислот в срезах и митохондриях клеток коркового слоя почек (продукция аммиака в мкМ/г ткани/час)

Условия опыта	Глутаминовая кислота		Аспарагиновая кислота		Орнитин	
	контроль	+НАД	контроль	+НАД	контроль	+НАД
Срезы	6.2±0.4	6.4±0.3	9.8±1.2	10.0±1.0	12.4±1.4	12.3±1.1
Митохондрии	0.75±0.1	1.4±0.3	0.42±0.07	0.38±0.07	0.38±0.05	0.4±0.05

аминирование глутаминовой, аспарагиновой кислот и орнитина, чем срезы коркового слоя почек. Параллельно проведенные опыты показали, что дыхательная способность митохондрий сохраняется (204 мкЛ/г ткани/час), однако и в этом отношении они в значительной мере уступают срезам (1180 мкЛ/г ткани/час).

Можно полагать, что в ходе выделения митохондрии теряют некоторые физиологически активные соединения (коферменты и др.), принимающие участие в процессах деаминации указанных аминокислот. В связи с этим небезынтересно было исследовать влияние никотинамидадениндинуклеотида (НАД), который, как известно, принимает активное участие в окислительных процессах и является коферментом глутаматдегидрогеназы, на интенсивность деаминации глутаминовой, аспарагиновой кислот и орнитина в срезах и митохондриях коркового слоя почек. Как видно из табл. 1, в срезах почек НАД не оказывает влияния на процессы деаминации этих аминокислот, а в митохондриях он способствует усилению этого процесса только в отношении глутаминовой кислоты. Что касается аспарагиновой кислоты и орнитина, то интенсивность их деаминации при этом не изменяется.

Далее изучали влияние цитоплазматической и ядерной фракций на деаминацию указанных аминокислот в митохондриях (табл. 2). Установлено, что добавление цитоплазматической фракции к митохондриальной вызывает подавление процесса деаминации аминокислот, в то время как ядерная фракция не вызывает никаких изменений. Интересно отметить, что ядерная фракция также обладает способностью деаминировать указанные аминокислоты.

Как по литературным [1, 7], так и по нашим данным [2, 4], интактные клетки коркового слоя почек обладают высокой активностью деаминировать ряд L-аминокислот. Низкую интенсивность деаминирова-

Таблица 2

Интенсивность деаминации некоторых L-аминокислот в различных субклеточных фракциях коркового слоя почек белых крыс

Условия опыта	Количество образовавшегося аммиака, мкмоль/г ткани/час		
	глутаминовая кислота	аспарагиновая кислота	орнитин
Митохондриальная фракция	0.75±0.07	0.42±0.05	0.38±0.05
Цитоплазма	0	0	0
Митохондрии + цитоплазма	0.15±0.05	0	0.1±0.05
Митохондрии + цитоплазма (термообработанная)	0.15±0.05	0	0
Ядерная фракция	0.6±0.07	0.18±0.07	0.53±0.05
Митохондрии + ядра	0.65±0.07	0.31±0.05	0.45±0.05
Митохондрии + ядра + цитоплазма	0.21±0.05	0	0.2±0.05

ния аминокислот в митохондриях отмечают и другие исследователи [6]. Добавленный НАД стимулирует деаминацию только L-глутаминовой кислоты, деаминация же L-аспарагиновой кислоты и L-орнитина не изменяется. Следует отметить, что при этом активность глутаматдегидрогеназы повышается в незначительной степени и намного уступает уровню, наблюдаемому в интактных клетках. Отсутствие эффекта НАД в отношении L-аспарагиновой кислоты и L-орнитина указывает на возможность участия других коферментов в процессах деаминации этих аминокислот.

Как было отмечено выше [2, 3], деаминация этих аминокислот осуществляется разными ферментами, функционирующими независимо от системы глутаминовая кислота—глутаматдегидрогеназа. Из вышеприведенных данных видно, что в цитоплазме содержится термостабильное вещество, которое подавляет деаминацию указанных аминокислот в митохондриях. Ранее в нашей лаборатории в цитоплазматической фракции различных тканей (почечной, печеночной, мозговой, мышечной) было выявлено наличие вещества, подавляющего деаминацию ряда L-аминокислот и срезах коркового слоя почек. Надо полагать, что в физиологических условиях, когда деаминация природных аминокислот протекает с высокой интенсивностью, это соединение оказывает регулирующее действие на процессы обмена указанных аминокислот.

Как уже было установлено нами, наружные клеточные мембраны играют важную роль в организации процесса деаминации указанных аминокислот в интактных клетках. Дыхание и деаминация аминокислот в интактных клетках протекают намного интенсивнее, чем в митохондриях. Повреждение тонкой структуры клеточных мембран под действием детергентов и соответствующих ферментов [5], не говоря уже о более грубом нарушении мембран путем гомогенизации, приводит к значительному снижению аминокислотдеаминирующей и дыхательной способности почек. Надо полагать, что наружные протоплаз-

матические интактные мембраны клеток через определенные каналы связаны с митохондриями и в зависимости от физиологического состояния организма посылают соответствующую информацию к этим органеллам клеток, регулируя обмен аминокислот в них.

Институт биохимии АН Армянской ССР

Поступило 17.11 1981

ՄԻ ՔԱՆԻ L-ԱՄԻՆԱԹՔՈՒՆԵՐԻ ԳԵԱՄՈՆԱՑՈՒՄԸ ՍՊԻՏԱԿ ԱՌՆՆՏԻ
ՆՐԻԿԱՄԱՆԵՐԻ ԿԵՂԵՎԱՅԻՆ, ՇՆՏՏԻ ԿՏՐՎԱԾՔՆԵՐՈՒԹ ԵՎ ՄԻՏՈՔՈՆԳՐԻԱՆՆԵՐՈՒԹ

Ա. Ս. ՕԳԱՆԵՍԻԱՆ, Մ. Ս. ՉԱԿԱՐԻԱՆ, Ժ. Ս. ԳԵՎՈՐԿԻԱՆ

Ուսումնասիրվել է L-գլուտամինի, L-ասպարտատի և L-օրնիտինի գեամինացման պրոցեսների ինտենսիվությունը կրկամի կեղևի կտրվածքներում և միտոքոնդրիաներում: Ստացված ավյայները ցույց են տվել, որ այդ ամինաթթուների գեամինացումը ինտակտ բջիջներում անհամեմատ ավելի ինտենսիվ է ընթանում քան միտոքոնդրիաներում: Այդ տարբերությունը նրկատվում է նաև հյուսվածքային շնչառության նկատմամբ: Ենթադրվում է, որ բջիջների արտաքին թաղանթները որոշակի ուղիներով կապված են միտոքոնդրիաների հետ և օրգանիզմի ֆիզիոլոգիական վիճակներից կախված՝ այդ ուղիների միջոցով համապատասխան ինֆորմացիա են ուղարկում և կարգավորում ամինաթթուների փոխանակությունը միտոքոնդրիաներում:

DEAMINATION OF SOME L-AMINO ACIDS IN THE SLICES
AND MITOCHONDRIA OF WHITE RATS KIDNEYS CORTEX

A. S. OGANESSIAN, M. S. ZACKARIAN, I. S. GEVORKIAN

Deamination of L-amino acids in the intact cells takes place more intensive than in mitochondria. The phenomenon is observed also in relation to their respiration peculiarities. It is possible that in intact cells the outer cellular membranes are connected with mitochondria through definite canals and in dependence on the organism physiological condition regulate the exchange of amino acids in these organells by means of corresponding information.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Браунштейн А. Е., Азарх Р. М. Биохимия, 9, 337—359, 1944.
2. Бунятыя Г. Х., Оганесян А. С., Геворкян Ж. С. ДАН СССР, 177, 4, 951—954, 1967.
3. Бунятыя Г. Х., Оганесян А. С., Геворкян Ж. С., Чобанян К. А. ДАН АрмССР, 47, 1, 31—36, 1968.
4. Геворкян Ж. С. Канд. дисс., Ереван, 1969.
5. Оганесян А. С., Геворкян Ж. С., Беджанян К. Д. ДАН АрмССР, 62, 4, 251—256, 1976.
6. Hird F. J. R., Marglinson M. A. Arch. Biochem. Biophys., 115, 247—256, 1966.
7. Krebs H. A. Biochem. J., 29, 7, 1620—1644, 1935.
8. Schneider W. S., Hoegebom G. H. J. Biol. Chem., 204, 238—238, 1953.