

М.В. Кришталь

Вплив хронічного ацидозу на білковий обмін

В опытах на нелинейных крысах-самцах изучалось влияние 7-суточного внутрижелудочно-го введения 30 ммоль/кг молочной кислоты, NaHCO_3 и 20 ммоль/кг NH_4Cl на содержание в крови общего белка, остаточного азота, мочевины и креатинина. При этом выявлялась активность в крови альдолазы и аланинаминотрансферазы (АЛТ), а также изучали почечные функции: скорость клубочковой фильтрации (СКФ), диурез, экскрецию с мочой аммония, креатинина и белка. Установлено, что хронический, гиперхлоремический и молочнокислый ацидоз достоверно снижали содержание в крови белка и остаточного азота при повышении концентрации мочевины, что сопровождалось значительным увеличением экскреции с мочой NH_4^+ . Хронический алкалоз, напротив, снижал в крови содержание мочевины при неизменной концентрации белка и остаточного азота, и резко уменьшал экскрецию с мочой NH_4^+ . При этом концентрация креатинина крови, СКФ, диурез, экскреция с мочой креатинина и белка не коррелировали с отмеченными изменениями белкового обмена. Активность альдолазы и АЛТ во всех сериях опыта оставались в пределах нормы, что свидетельствует об отсутствии повреждения печени. Полученные результаты говорят о значительном расходе пула аминокислот в процессе почечного аммонирования при хроническом ацидозе и его сохранении при алкалозе, о нарушении синтеза белка и повышении его катаболизма при ацидозе для пополнения пула аминокислот, а также об активации мочевинообразования для удаления из крови избытка NH_4^+ .

ВСТУП

У дослідях на культурі м'язових клітин [19], в експериментах на щурах [18] і при обстеженні дорослих хворих [7, 14] і дітей [9] відмічено, що хронічний метаболічний ацидоз стимулює катаболізм білків м'язів і кісток та деградацію амінокислот з розгалуженими ланцюгами, що спричинює втрату м'язової маси та розвиток негативного азотистого балансу. Встановлено, що цей розпад м'язових білків відбувається за допомогою АТФ-залежного убіквітин-протеасомального протеолізу [14, 18, 19]. В експериментах на щурах також показано, що різні види негазового ацидозу (гіперхлоремічний, молочнокислий і кетоацидоз при голодуванні) підвищують активність еластази сироватки крові та тканин аорти [6]. Крім того, ацидоз зни-

жує синтез альбуміну в людей [8], зменшує захоплення амінокислот печінкою і робить тканини резистентними до гормону росту та інсуліноподібного фактора росту [13].

Водночас ці, на перший погляд, негативні зміни білкового обміну супроводжуються значним підсиленням ниркового амоніогенезу при ацидозі та його пригніченням при алкалозі [1, 3], що необхідно для відновлення нормального кислотно-основного стану (КОС) організму. Річ у тім, що завдяки бікарбонатному буферу нелеткі кислоти потрапляють у нирки вже у вигляді натрієвих солей. Тому роль нирок у компенсаторних реакціях організму при негазовому ацидозі полягає у виведенні з сечею аніонів нелетких кислот і реабсорбції іонів натрію, які повертаються в кров разом з іонами бікарбонату. Збе-

реження натрію та виведення з організму аніонів кислот забезпечується головним чином нирковим амоніогенезом і обміном в проксимальних каналцях нефрону Na^+ на новоутворений NH_4^+ [1, 4, 12]. Основним джерелом NH_4^+ при нирковому амоніогенезі є глютамін, який у мітохондріях нефроцитів деамідується глютаміназою з утворенням NH_4^+ і глютамат-іона, який далі деамінується глютаматдегідрогеназою до α -кетоглутарат-іона і ще одного NH_4^+ . α -кетоглутарат в процесі ниркового неоглюкогенезу перетворюється на глюкозу та два іони бікарбонату, які повертаються в кров [17]. Більшість інших амінокислот переносить свою α -аміногрупу на α -кетоглутарат з утворенням глютамату і потім глютаміну [5]. Останній в основному синтезується в скелетних м'язах, легенях і жировій тканині, а далі транспортується кров'ю і в нормі споживається переважно печінкою [11]. При нормальному КОС нирки вилучають з крові дуже мало глютаміну, але за умов ацидозу – більше ніж 1/3 всього його вмісту в крові при кожному проходженні її через нирки [12]. Крім того, глютамат і глютамін є джерелом NH_4^+ при біосинтезі замісних амінокислот [5]. Отже, при ацидозі надмірне споживання нирками глютаміну може порушувати ресинтез інших амінокислот. За цих умов пул амінокислот може підтримуватися лише внаслідок протеолізу білків, який на нашу думку, слід розглядати як механізм адаптації. Але можливо, що зміни в метаболізмі білків при ацидозі пов'язані з печінковою чи нирковою патологією, на що вказують дані про зниження сечовиноутворення та зменшення захоплення амінокислот печінкою при ацидозі [10, 13].

Метою нашої роботи було зіставлення показників білкового обміну з показниками печінкових і ниркових функцій для з'ясування механізмів і призначення змін білкового метаболізму при хронічному негазовому ацидозі.

МЕТОДИКА

Досліди проведено на 37 нелінійних білих щурах-самцях масою 0,12 – 0,15 кг, яких утримували на стандартному гіпонатрієвому раціоні (0,2 – 0,5 ммоль/кг NaCl впродовж доби). Хронічний негазовий молочнокислий ацидоз моделювали щодобовим внутрішньошлунковим введенням за допомогою металевого зонду протягом 7 діб 30 ммоль/кг молочної кислоти, хронічний гіперхлоремічний ацидоз – 20 ммоль/кг NH_4Cl і хронічний негазовий алкалоз – 30 ммоль/кг NaHCO_3 . Контрольним тваринам в тому ж об'ємі вводили водопровідну воду. Через 1 год після останнього введення препаратів усім щурам для індукування діурезу внутрішньошлунково вводили водопровідну воду (50 мл/кг), підігріту до температури тіла. Сечу збирали протягом 2 год, після чого щурів декапітували під легким ефірним наркозом.

У сироватці крові визначали вміст загального білка методом Лоурі за допомогою набору фірми "Simko LTD" (Львів), а також вміст сечовини діацетилмонооксимним методом з використанням набору фірми "Lachema" (Чехія). Залишковий азот у сироватці крові досліджували гіпобромітним методом Раппопорта – Ейхгорна, активність альдолази – за Товарницьким і Валуйською в модифікації Ананьєва і Обухової, активність аланін-амінотрансферази (АЛТ) – динітрофенілгідразиним методом Райтмана – Френкеля. Концентрацію креатиніну вимірювали класичним методом з пікриною кислотою: в сироватці крові за Поппером, а в сечі за Фолінім. Вимірювали діурез. Швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) розраховували за кліренсом ендогенного креатиніну. Концентрацію білка в сечі визначали сульфосаліциловим методом. Показники ниркових функцій розраховували за допомогою загальноприйнятих формул. Результати обробляли статистично з використанням критерію *t* Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Хронічний негазовий ацидоз призводив до значного підсилення екскреції з сечею амонію (табл. 1) як при введенні NH_4Cl , так і

при навантаженні молочною кислотою, що свідчить про посилення ниркового амоніогенезу. У разі хронічного алкалозу, навпаки, амоніогенез і екскреція амонію майже повністю припинялися. При цьому экс-

Таблиця 1. Стан ниркових функцій при хронічному ацидозі та алкалозі за умов індукованого діурезу ($\bar{x} \pm S_x$)

Показник	Контроль (n=10)	Молочна кислота (n=10)	NH_4Cl (n=9)	NaHCO_3 (n=8)
Швидкість клубочкової фільтрації, $\text{мл} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$	$2,34 \pm 0,14$	$1,77 \pm 0,19$ P<0,05	$3,02 \pm 0,71$ P>0,2	$5,79 \pm 0,42$ P<0,001
Діурез, $\text{мл} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$	$0,384 \pm 0,021$	$0,086 \pm 0,009$ P<0,001	$0,278 \pm 0,032$ P<0,02	$0,442 \pm 0,037$ P>0,1
Екскреція з сечею NH_4 , $\text{мкмоль} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$	$4,09 \pm 0,44$	$19,89 \pm 1,45$ P<0,001	$36,48 \pm 5,94$ P<0,001	$0,012 \pm 0,001$ P<0,001
білка, $\text{мг} \cdot \text{год}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$	$0,14 \pm 0,02$	$0,12 \pm 0,01$ P>0,2	$0,15 \pm 0,03$ P>0,5	$0,19 \pm 0,03$ P>0,1
креатиніну, $\text{мкмоль} \cdot \text{год}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$	$12,1 \pm 1,3$	$10,1 \pm 0,7$ P>0,1	$14,7 \pm 2,5$ P>0,2	$26,4 \pm 3,4$ P<0,001

креція білка з сечею вірогідно не змінювалась у жодній з серій експерименту. Це свідчить про те, що а ні гломерулярний фільтр, а ні каналці нефрону не зазнавали суттєвого ушкодження. ШКФ дещо зменшувалася при лактат-ацидозі, вірогідно не змінювалася при гіперхлоремічному ацидозі та значно підсилювалась при алкалозі. Останнє, ймовірно, пов'язане з блокуванням ниркової ренін-ангіотензинової системи надлишком Na^+ [1] та зі здатністю алкалозу стимулювати ендотеліальну NO-синтазу [20]. Діурез при ацидозі зменшувався, що було наслідком реаб-

сорбції Na^+ для регенерації бікарбонатного буфера та затримки води для зменшення концентрації у позаклітинній рідині іонів водню [4]. Незважаючи на значне збільшення, ШКФ при алкалозі, діурез при цьому вірогідно не змінювався, що, ймовірно, пов'язано з механізмом клубочково-каналцевого балансу [1] і, можливо, з посиленням секреції вазопресину за умов навантаження натрієм та розвитку гіперосмії. Екскреція креатиніну з сечею відповідала змінам клубочкової фільтрації.

У сироватці крові (табл. 2) ацидоз зменшував вміст білка, що неможливо пояс-

Таблиця 2. Зміни показників білкового обміну при хронічному ацидозі та алкалозі ($\bar{x} \pm S_x$)

Показник	Контроль (n=10)	Молочна кислота (n=10)	NH_4Cl (n=9)	NH_4Cl (n=9)
Білок у сироватці крові, г/л	$82,6 \pm 4,7$	$51,9 \pm 5,8$ P<0,001	$54,3 \pm 4,1$ P<0,001	$88,4 \pm 7,3$ P>0,5
Залишковий азот крові, ммоль/л	$21,0 \pm 1,4$	$17,4 \pm 1,0$ P<0,05	$16,4 \pm 1,4$ P<0,05	$21,7 \pm 1,3$ P>0,2
Сечовина в сироватці крові, ммоль/л	$5,12 \pm 0,30$	$8,27 \pm 0,41$ P<0,001	$7,34 \pm 0,39$ P<0,001	$3,18 \pm 0,17$ P<0,001
Креатинін у сироватці крові, мкмоль/л	$48,3 \pm 2,5$	$64,8 \pm 6,1$ P<0,05	$44,7 \pm 2,0$ P>0,2	$47,7 \pm 0,7$ P>0,5

нити втратою його з сечею. Хоча при молочнокислому ацидозі це частково можна віднести за рахунок розведення крові за умови дуже низького діурезу, основна причина гіпопротеїнемії, імовірно, полягає у зниженні печінкового синтезу альбуміну [8] і підсиленому протеолізі. Вміст креатиніну крові збільшувався при лактат-ацидозі, можливо внаслідок зниження ШКФ і не змінювався при введенні NH_4Cl і NaHCO_3 .

При обох видах ацидозу в крові суттєво збільшувалася концентрація сечовини, що свідчить про нормальну сечовиноутворювальну функцію печінки. У разі алкалозу вміст сечовини в сироватці крові суттєво зменшувався порівняно з контролем. Це неможливо пояснити ушкодженням печінки, оскільки активність альдолази і АЛТ залишалася в межах норми в усіх серіях досліду і вірогідно не відрізнялися від контролю. Здається, що такі зміни сечовиноутворення пов'язані з тим, що при ацидозі частина амонію потрапляє в кров і його необхідно знешкодити. Можливість підвищення в крові концентрації NH_4^+ більш імовірна тому, що після утворення і секреції в проксимальному канальці значна частина NH_4^+ реабсорбується у товстій висхідній частині петлі Генле, потрапляє в інтерстицій і лише у мозковій частині збиральних трубок знов секретується в сечу [1]. Крім того, глутаміназа ниркового типу, яка активується при ацидозі посттранскрипційно, зустрічається також у кишечнику, мозку та лімфоцитах [11]. Збільшення синтезу сечовини при ацидозі підтверджується підвищенням активності перших двох ферментів циклу сечовини: карбамоїлфосфатсинтетази та орнітинтранскарбамоїлази в печінці шурів при хронічному ацидозі [16]. Твердження [10, 13] про зниження синтезу сечовини при ацидозі не зовсім коректні, оскільки авторами вивчалася лише екскреція сечовини, а вона залежить і від фільтрації, і від реаб-

сорбції. До того ж, зменшена в перші доби ацидозу екскреція сечовини поступово збільшується [16]. Це, ймовірно, пов'язано з тим, що при ацидозі значно підсилюється синтез печінкою глутаміну з глутамату та NH_4^+ і печінка починає секретувати глутамін в кров, забезпечуючи ним нирки [21]. З цієї причини для сечовиноутворення в перші доби ацидозу NH_4^+ може не вистачати, а пізніше виникає його надлишок. Цікаво відмітити, що глюкокортикоїди, синтез яких збільшується при ацидозі [3], одночасно посилюють нирковий амоніогенез [2], транскрипційно активують глутамінсинтетазу [15] і стимулюють АТФ-залежний убіквітин-протеасомальний протеоліз [7, 18, 19], який є джерелом амінокислот для амоніогенезу. Зниження вмісту сечовини при алкалозі може бути пов'язане зі зменшенням розпаду амінокислот у зв'язку з пригніченням амоніогенезу, а отже і нестачею NH_4^+ .

Незважаючи на збільшення в сироватці крові вмісту сечовини, яка є основним компонентом залишкового азоту, загальний вміст залишкового азоту при хронічному ацидозі вірогідно знижувався, що ми можемо пояснити лише значним зменшенням пулу амінокислот. При хронічному алкалозі цей пул, навпаки, збільшувався.

Таким чином, підсумовуючи власні результати та літературні дані, можемо констатувати, що активація ниркового амоніогенезу при хронічному негазовому ацидозі призводить до підсиленого захоплення глутаміну нирками, розпаду амінокислот і зменшення їх ресинтезу, що спричинює зниження запасів амінокислот у крові, незважаючи на прискорення синтезу печінкою глутаміну. Одночасне збільшення печінкового сечовиноутворення запобігає токсичній дії надлишку іонів амонію. Катаболізм білків і порушення їх синтезу забезпечують нирковий амоніогенез субстратом, а зменшення вмісту білків крові, зниження м'язової маси і порушення

органічної основи кісток є ціною адаптації організму до хронічного негазового ацидозу.

M. V. Kryshstal

EFFECTS OF CHRONIC ACIDOSIS ON PROTEIN METABOLISM

In experiments on mongrel albino male rats, we studied the effects of 30 mmol/kg lactic acid, 30 mmol/kg NaHCO₃, and 20 mmol/kg NH₄Cl (intraventricular injections, daily for 7 days) on the contents of total protein, residual nitrogen, urea, and creatinine in the blood, as well as on the activities of aldolase and alanine aminotransferase (ALT). We also studied the effects of the above agents on renal functions: glomerular filtration rate (GFR), diuresis, and excretion of ammonium, creatinine, and protein with urine. We have found that chronic, hyperchloremic, and lactic acidosis resulted both in a significant decrease in the levels of protein and residual nitrogen and in an increase in the concentration of the urea; these phenomena were accompanied by a considerable intensification of the urinary NH₄⁺ excretion. In contrast, under conditions of chronic alkalosis we observed a drop in the level of urea in the blood with no changes in the concentrations of protein and residual nitrogen, as well as a dramatic depression of the urinary NH₄⁺ excretion. In that case, the concentration of creatinine in the blood, GFR, diuresis, and excretion of creatinine and protein with urine did not correlate with the above-mentioned changes in protein metabolism. In all experiments, the activities of aldolase and ALT preserved their normal level giving evidence against damage to the liver. These results give evidence for spending a great number of amino acids on the renal ammoniogenesis at chronic acidosis; their saving at alkalosis; an impairment of the protein synthesis, and an increase in protein catabolism at acidosis to replenish the pool of amino acids, as well as for an activation of the urea synthesis to eliminate the excessive amount of NH₄⁺ from the blood.

A.A. Bogomoletz National Medical University, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вандер А. Физиология почек: Пер. с англ. – СПб: Питер, 2000. – 252 с.
2. Кришталь Н.В., Гоженко А.И. Роль гипофизарно-надпочечниковой системы в регуляции кислото-выделительной функции почек // Физиол. журн. – 1989. – **35**, № 1. – С. 59 – 62.
3. Кришталь М.В. Нейрон-гуморальна регуляція компенсаторних реакцій нирок при метаболічному ацидозі: Автореф. дис. ...д-ра. мед. наук. – К., 1994. – 43 с.
4. Кришталь М.В. Нові аспекти у викладанні пато-

логії кислотно-лужного стану // Физиол. журн. – 1998. – **44**, № 4. – С. 87 – 88.

5. Страйер Л. Биохимия: Пер. с англ. – М.: Мир, 1985. – Т. 2. – 308 с.
6. Трофимова І.М., Досенко В.Є., Биць Ю.В. Активність еластази та її інгібіторів у тканинах аорти та сироватці крові при різних видах ацидозу // Физиол. журн. – 2001. – **47**, № 6. – С. 24 – 29.
7. Bailey J.L. Metabolic acidosis and protein catabolism: mechanisms and clinical implications // Miner. Electrolyte Metab. – 1998. – **24**, № 1. – P. 13 – 19.
8. Ballmer P.E., McNurlan M.A., Hulter H.N. et al. Chronic metabolic acidosis decreases albumin synthesis and induces negative nitrogen balance in humans // J. Clin. Invest. – 1995. – **95**, № 1. – P. 39 – 45.
9. Boirie Y., Broyer M., Gagnadoux M.F. et al. Alterations of protein metabolism by metabolic acidosis in children with chronic renal failure // Kidney Int. – 2000. – **58**, № 1. – P. 236 – 241.
10. Boon L., Blommaert P.J., Vtjjer A.J. et al. Response of hepatic amino acid consumption to chronic metabolic acidosis // Amer. J. Physiol. – 1996. – **271**, № 1, Pt.2. – P. F198 – F202.
11. Curthoys N.P., Watford M. Regulation of glutaminase activity and glutamine metabolism // Annu. Rev. Nutr. – 1995. – **15**. – P. 133 – 159.
12. Curthoys N.P. Role of mitochondrial glutaminase in rat renal glutamine metabolism // J. Nutr. – 2001. – **131**, 9 Suppl. – P. 2491S – 2497S.
13. Deferrari G., Garibotto G., Robaudo C. et al. Protein and amino acid metabolism in splanchnic organs in metabolic acidosis // Miner. Electrolyte Metab. – 1997. – **23**, № 3 – 6. – P. 229 – 233.
14. Garibotto G. Muscle amino acid metabolism and the control of muscle protein turnover in patients with chronic renal failure // Nutrition. – 1999. – **15**, № 2. – P. 145 – 155.
15. Labow B.I., Souba W.W., Abcouwer S.F. Mechanisms governing the expression of the enzymes of glutamine metabolism – glutaminase and glutamine synthetase // J. Nutr. – 2001. – **131**, 9 Suppl. – P. 2467S – 2487S.
16. Lardner A.L., O'Donovan D.J. Alterations in renal and hepatic nitrogen metabolism in rats during HCl ingestion // Metabolism. – 1998. – **47**, № 2. – P. 163 – 167.
17. Mallie' J.P. L'ammoniogenese renal // Pathol.-biol. – 1973. – **21**, № 2. – P. 187 – 194.
18. May R.C., Bailey J.L., Mitch W.E. et al. Glucocorticoids and acidosis stimulate protein and amino acid catabolism in vivo // Kidney Int. – 1996. – **49**, № 3. – P. 679 – 683.
19. Mitch W.E. Cellular mechanisms of catabolism activated by metabolic acidosis // Blood Purif. – 1995. – **13**, № 6. – P. 368 – 374.
20. Vizuno S., Demura Y., Ameshima S. et al. Alkalosis stimulates endothelial nitric oxide synthase in cultured human pulmonary arterial endothelial cells // Amer. J. Physiol. – 2002. – **283**, № 1. – P. L113 – L119.
21. Watford M., Chellaraj V., Ismat A. et al. Hepatic glutamine metabolism // Nutrition. – 2002. – **18**, № 4. – P. 301 – 303.

Матеріал надійшов до редакції 28.07.2003

Київ. нац. мед. ун-т ім. О.О. Богомольця