

Глава 21

Источники и пути обезвреживания аммиака в организме

В процессе эволюции сформировались различные типы азотистого обмена, которые классифицируются по основному конечному продукту: 1) *аммонiotелический* тип, главный конечный продукт — аммиак (рыбы); 2) *урикоотелический* тип, главный конечный продукт — мочевая кислота (рептилии, птицы); 3) *уреотелический* тип, главный конечный продукт — мочевина (млекопитающие).

Подсчитано, что в состоянии азотистого равновесия организм здорового взрослого человека потребляет и выделяет около 15 г азота в сутки. Из экскретируемого с мочой количества азота на долю мочевины приходится 85 %, креатинина 5 %, аммонийных солей 3–6 %, мочевой кислоты 1 % и другие формы 3–6 %. В образовании мочевины и аммонийных солей главную роль играет аммиак.

Основные источники аммиака:

- 1) поступление аммиака из кишечника в портальную вену;
- 2) трансдезаминирование аминокислот;
- 3) дезаминирование биогенных аминов,

пуриновых и пиримидиновых оснований;

- 4) дезамидирование глутамина и аспарагина;
- 5) окислительное дезаминирование аминокислот.

Функции аммиака. Аммиак вовлекается (непосредственно или через глутамин) в синтез многих компонентов организма: заменимые аминокислоты, пурины, пиримидины, аминоксахара и т. д.

Токсичность аммиака. Несмотря на постоянную продукцию NH_3 в различных тканях, его концентрация в кровотоке низкая (100–200 мкг/л). Это связано с тем, что в организме существуют эффективные механизмы транспорта и обезвреживания аммиака.

Аммиак токсичен. Он всасывается из кишечника в портальную венозную кровь, где уровень его намного выше, чем в общем кровотоке. В норме печень быстро захватывает аммиак из портальной крови, и кровь, покидающая печень, практически свободна от аммиака.

Молекулярные механизмы токсичности не до конца понятны. Терминальные



Глава 21 Источники и пути обезвреживания аммиака в организме

интоксикации аммиаком характеризуются коматозным состоянием. Поэтому основное внимание при объяснении токсичности аммиака сконцентрировано на головном мозге.

Одной из главных причин токсичности аммиака на молекулярном уровне является его способность восстановительно аминировать 2-оксоглутарат в глутамат и превращать глутамат в глутамин. Ферменты глутаматдегидрогеназа и глутаминсинтетаза, участвующие в этих реакциях, находятся в мозге в большой концентрации. В результате 2-оксоглутарат отвлекается из цикла трикарбоновых кислот. Это может привести: 1) к замедлению регенерации оксалоацетата и, как следствие, к накоплению ацетил-КоА и через него к кетонемии и ацидозу; 2) к ослаблению потока протонов и электронов в митохондриальные дыхательные цепи и снижению продукции АТФ прежде всего для клеток головного мозга.

Снижение концентрации глутамата в результате глутаминсинтетазной реакции приводит к уменьшению концентрации γ -аминоасляной кислоты, которая является важным нейромедиатором.

Поэтому в организме есть системы обезвреживания аммиака, в результате функционирования которых в крови поддерживается низкая концентрация аммиака (около 0,01 ммоль/л, что в пятьсот раз меньше концентрации глюкозы). Условно выделяют местные (временное связывание) и общие (конечные) механизмы обезвреживания аммиака.

Местное обезвреживание аммиака

Осуществляется в тканях (мозг, сетчатка, мышцы, печень, почки и др.), продуцирующих аммиак, тремя путями:

1. Основной путь — это связывание аммиака с глутаминовой и реже аспарагиновой кислотами с образованием соответствующих амидов — *глутамина* и *аспарагина* (фермент *глутаминсинтетаза*). Глутамин является нетоксической транспортной формой аммиака и его концентрация в крови значительно выше концентрации других аминокислот (рис. 21.1).
2. Амидирование остатков глутаминовой и аспарагиновой кислот в составе белков.

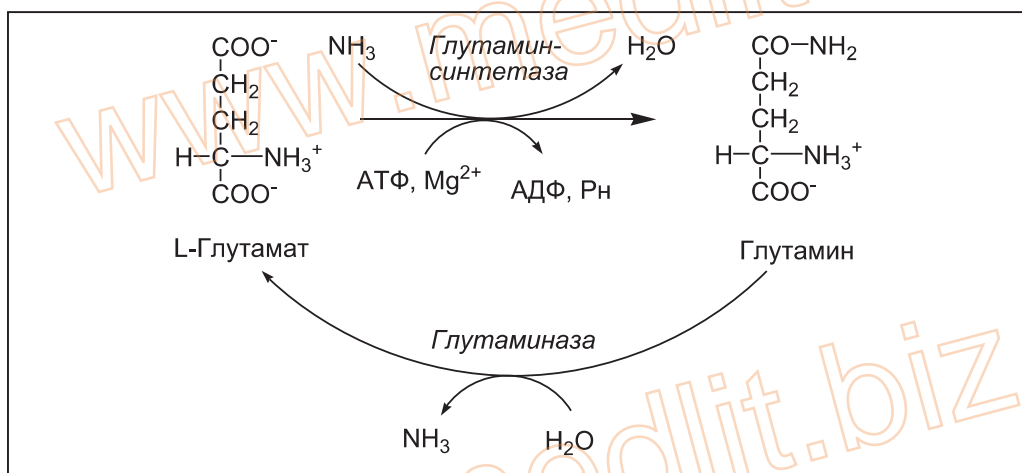


Рис. 21.1. Образование и распад глутамина.



3. Восстановительное аминирование 2-оксоглутарата в глутамат. Глутамат в реакциях трансаминирования с пируватом образует аланин (особенно в мышцах).

Глутамин и аланин являются резервными и транспортными формами аммиака.

Общая схема местного обезвреживания аммиака представлена на рис. 21.2.

Следовые количества аммиака присутствуют в сыворотке крови в виде ионов аммония. Транспортные формы аммиака — глутамин и аланин — выполняют две основные функции. *Глутамин* является донором амидной группы для биосинтеза пуриновых азотистых оснований, карбамоилфосфата, глюкозамина, триптофана и др. соединений в тканях с *выраженной пролиферативной активностью* (кишечник, опухоли и др.), а также является основным источником амидной группы для конечного обезвреживания аммиака в почках в виде аммонийных солей. *Аланин* транспортирует аммиак в виде аминной группы в печень, где используется для синтеза мочевины, а остав-

шийся углеродный скелет служит для образования глюкозы в реакциях глюконеогенеза.

Описан глюкозо-аланиновый цикл в системе мышцы-печень (в мышцах освобождается около 50 % от общего пула свободных аминокислот, а печень выделяет около 85 % от выводимого азота в виде мочевины).

На на рис. 21.3 представлены глюкозо-лактатный и глюкозо-аланиновый циклы.

В глюкозо-аланиновом цикле глутамат, образующийся при трансаминировании, переносит аминогруппу на пируват (продукт гликолиза) с участием фермента АЛАТ. Синтезированный аланин поступает в кровь и затем в печень. В цитозоле гепатоцитов АЛАТ переносит аминогруппу от аланина на 2-оксоглутарат, образуя пируват и глутамат. Глутамат затем поступает в митохондрии, где под действием глутаматдегидрогеназы высвобождается аммиак, или подвергается трансаминированию с оксалацетатом с образованием аспартата (донор атома азота для синтеза мочевины).

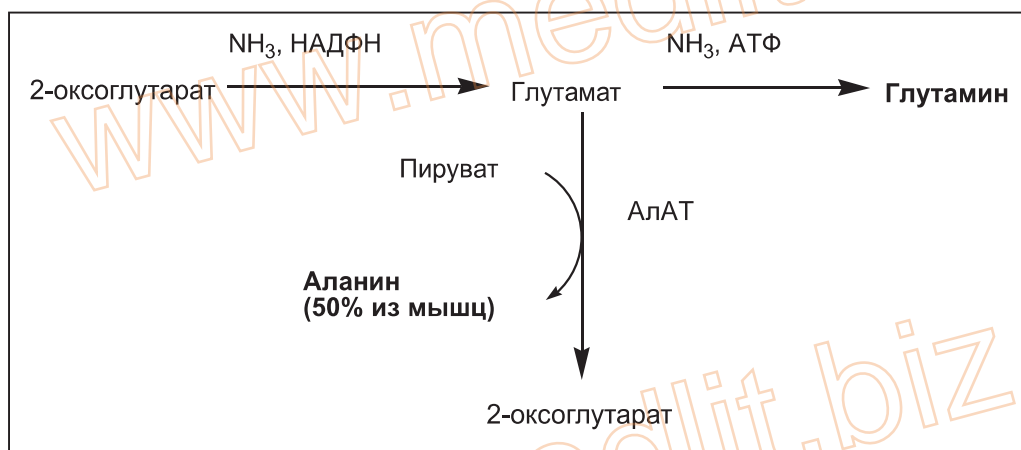


Рис. 21.2. Транспортные формы аммиака.



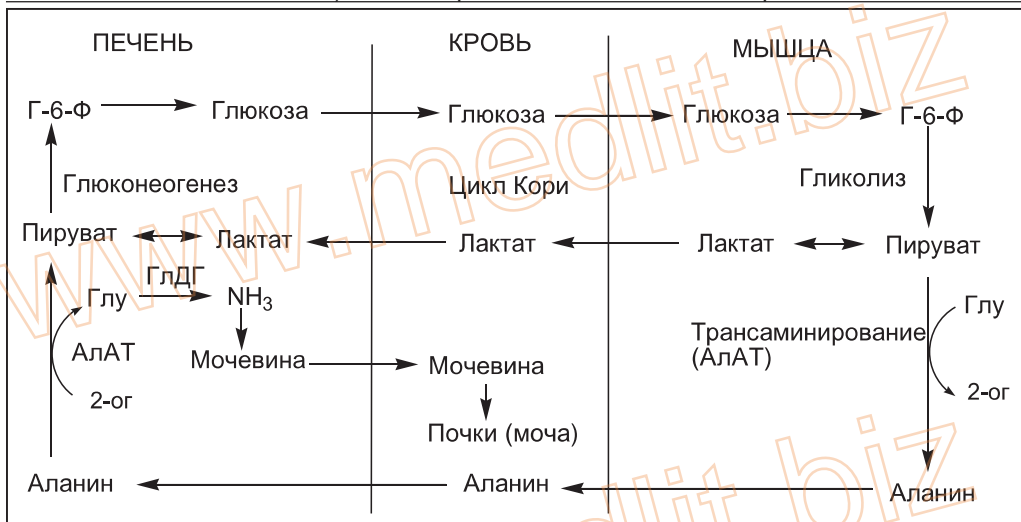


Рис. 21.3. Глюкозо-лактатный и глюкозо-аланиновый циклы (2-ог-2-оксоглутарат).

Общее обезвреживание аммиака

Общее (конечное) обезвреживание аммиака включает два процесса: образование аммонийных солей в почках и мочевины в печени.

Образование и выведение аммонийных солей

В тканях, преимущественно в почках, есть фермент *глутаминаза*, который катализирует освобождение аммиака из глутамина. Фермент активируется в присутствии протонов. Глутамин + $H_2O \rightarrow$ Глутамат + NH_3 .

Аммиак удаляется с мочой в виде ионов аммония: $NH_3 + H^+ \rightarrow NH_4^+$; соединение с анионами щавелевой, фосфорной, мочевой и др. кислот ведет к образованию солей — оксалатов, фосфатов, уратов и т. п. В сутки с мочой выделяется около 1,2 г аммонийных солей. Это позволяет выводить из организма не только аммиак, но и протоны, образующиеся в метаболизме.

Поэтому выведение солей аммония является важным механизмом регуляции кислотно-основного равновесия, при котором нейтрализация неорганических и органических анионов катионами аммония сберегает важные для организма катионы калия, натрия, магния и др.

Биосинтез мочевины

Основным механизмом обезвреживания аммиака является синтез мочевины в печени. Из исследований школы И. П. Павлова следует, что мочевина синтезируется в печени, так как при выключении печени из кровотока (фистула Экка-Павлова) в крови растет фонд свободных аминокислот, аммиака и резко уменьшается содержание мочевины. М. В. Ненцкий и С. С. Салазкин доказали, что в печени происходит образование мочевины из аммиака и углекислоты. Г. Кребс и К. Гензелейт (1932) показали, что инкубация срезов печени с различными аминокислотами дает малый выход мочевины. Однако,



если добавить одну из трех аминокислот — орнитин, цитруллин и аргинин — образование мочевины резко возрастает. При этом другие аминокислоты также становятся предшественниками мочевины. На основании этих данных Г. Кребс создал первый в биохимии метаболический цикл мочевинообразования. Г. Коен и С. Ратнер выяснили, что начальной реакцией этого цикла является синтез карбамоилфосфата.

Из мышц и других тканей аммиак доставляется в печень в виде *аланина* и *глутамина*. Из кишечника по воротной вене поступает всосавшийся аммиак. В митохондриях гепатоцитов в реакции трансаминирования освобождается аммиак. Аммиак включается в метаболизм двумя путями.

1. В *цитозоле гепатоцитов* и других клеток имеется *глутаминзависимая карбамоилфосфатсинтетаза II* (КФ 6.3.5.5.): $L\text{-Глн-NH}_2 + \text{CO}_2 + \text{АТФ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{карбамоилфосфат} + L\text{-Глу} + \text{АДФ}$. Этот карбамоилфосфат используется при синтезе *пиримидиновых азотистых оснований*.

2. В *митохондриях гепатоцитов* аммиак конденсируется с углекислотой, также образуя карбамоилфосфат; фермент — аммиакзависимая *карбамоилфосфатсинтетаза I* (КФ 6.3.4.16.). При этом расходуются две молекулы АТФ, и требуется специфический активатор — *N-ацетилглутамат*: $\text{NH}_3 + \text{CO}_2 + 2 \text{АТФ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{карбамоилфосфат} + 2 \text{АДФ} + \text{H}_3\text{PO}_4$. Это первая реакция синтеза мочевины.

3. Карбамоилфосфат вступает в цикл мочевины и взаимодействует с орнитином (фермент *орнитинтранскарбамоилаза*) с образованием *цитруллина*. Орнитин играет такую же роль, как оксалоацетат в ЦТК. Цитруллин транспортируется из митохондрий в цитозоль.

4. Енольная форма цитруллина при участии *аргининосукцинатсинтетазы*

(третий фермент цикла) взаимодействует с аспарагиновой кислотой; процесс требует затраты одной молекулы АТФ.

5. *Аргининосукцинатлиаза* (четвертый фермент) катализирует распад *аргининосукцината* на аргинин и фумарат.

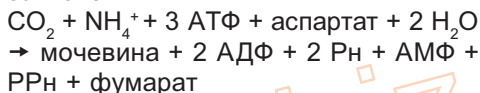
6. *Аргиназа* (пятый фермент) расщепляет аргинин на мочевину и орнитин. Аргиназа обнаружена только в печени, в то время как остальные ферменты присутствуют в других тканях. Поэтому аргинин может синтезироваться во многих тканях, но синтез мочевины происходит только в печени (рис. 21.4).

Регуляция синтеза мочевины: карбамоилфосфатсинтетаза является ключевым ферментом и определяет скорость всего процесса. Аллостерически активируется *N-ацетилглутаматом*, который синтезируется из глутамата и ацетил-КоА. Скорость синтеза мочевины коррелирует с концентрацией *N-ацетилглутамата*. Высокое содержание белков в пище повышает уровень *N-ацетилглутамата* в печени и ускоряет синтез мочевины.

Мочевина простой диффузией по градиенту концентрации выходит из клеток в кровь и выделяется с *мочой* (около 30 г в сутки). Небольшое количество мочевины поступает в кишечник, где распадается до CO_2 и H_2O под действием фермента *уреазы*.

Человек экскретировал 10 кг мочевины в год.

Суммарное уравнение реакций синтеза мочевины:



Взаимосвязь цикла синтеза мочевины и ЦТК. Синтез мочевины связан с ЦТК тремя путями.



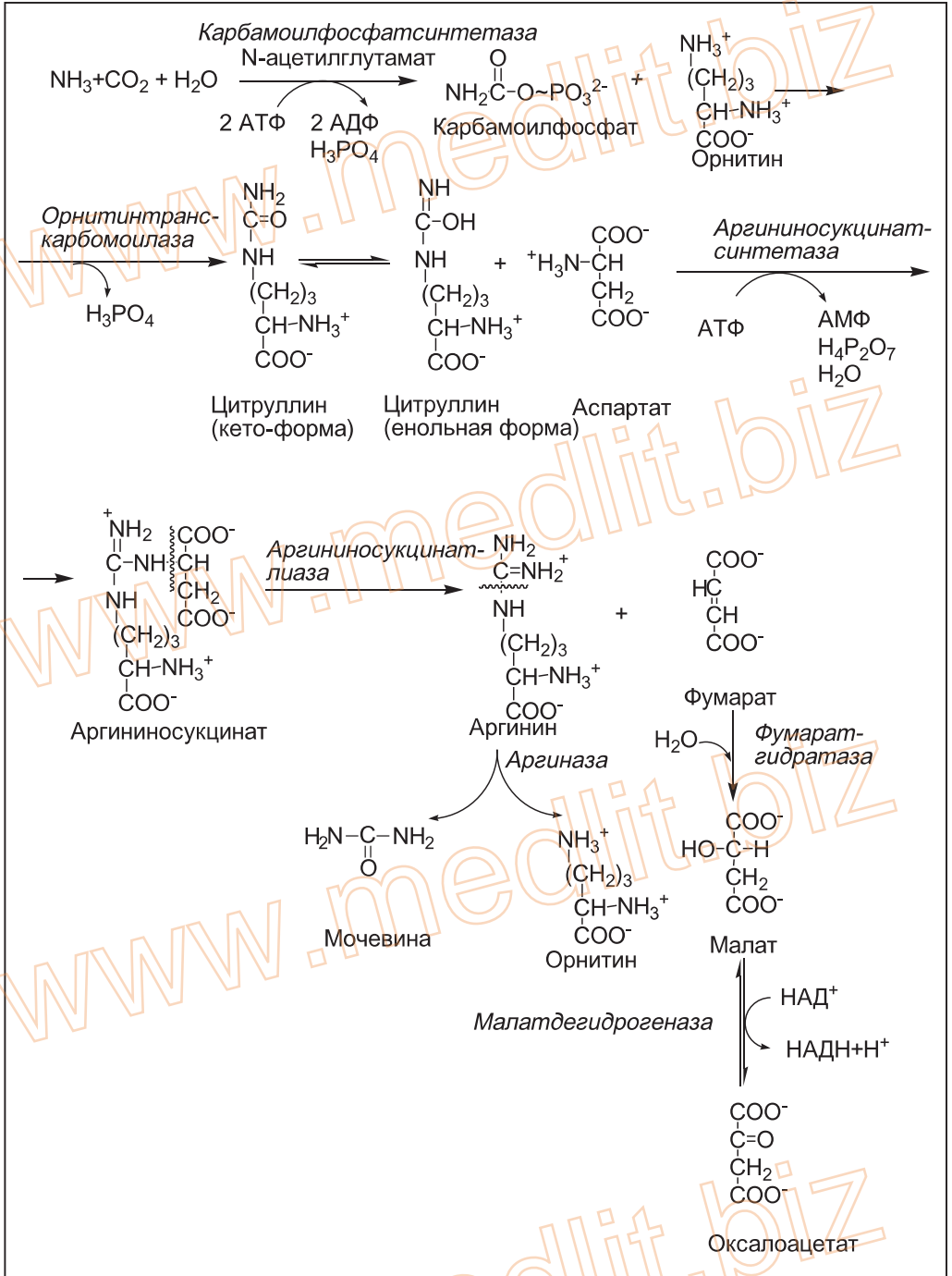


Рис. 21.4. Синтез мочевины.



1. **Фумарат**, который образуется в аргининосукцинатазной реакции, является метаболитом цикла мочевины и цикла трикарбоновых кислот. Поэтому эти два цикла связаны (двухколесный «велосипед» Кребса). Тем не менее, каждый цикл функционирует независимо, и взаимосвязь между ними зависит от транспорта промежуточных продуктов между митохондрией и цитозолем. Некоторые ферменты ЦТК (фумаратгидратаза и малатдегидрогеназа) имеют изоферменты в цитозоле. Фумарат, образуемый в цитозоле, превращается в малат и затем в оксалоацетат (ЩУК), которые либо далее метаболизируются в цитозоле, либо транспортируются в митохондрии для использования в ЦТК.

Аспартат, который образуется в митохондриях в результате трансаминирования оксалоацетата и глутамата, транспортируется в цитозоль, где является донором азота в реакции, катализируе-

мой аргининсукцинатазной реакцией (рис. 21.5).

2. CO_2 , образующийся в ЦТК, используется для синтеза мочевины.

3. Для синтеза одной молекулы мочевины необходимо 4 высокоэнергетических фосфатных группы: 2 АТФ используется для синтеза карбамоилфосфата и 1 АТФ — для синтеза аргининсукцината (при этом АТФ распадается на АМФ и $H_4P_2O_7$, который гидролизуется до 2-х молекул H_3PO_4). Цикл мочевины способствует превращению оксалоацетата в фумарат (через аспартат), регенерации оксалоацетата с образованием НАДН в малатдегидрогеназной реакции. Каждая молекула НАДН в результате переноса электронов по ЦПЭ образует 2,5 АТФ, уменьшая, тем самым, энергетические затраты для синтеза мочевины.

Происхождение атомов азота в молекуле мочевины. Один атом азота поступает из кишечника или периферических тканей и включается

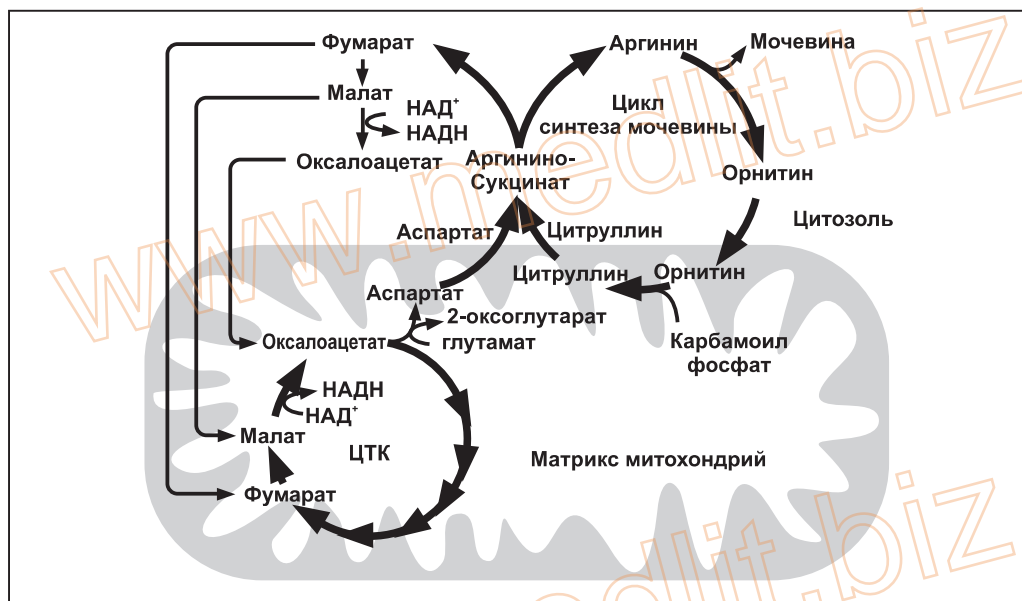


Рис. 21.5. Связь ЦТК и цикла мочевины.



Глава 21 Источники и пути обезвреживания аммиака в организме

через карбамоилфосфат; второй атом азота поступает в цикл мочевины в составе аспартата, а аспартат, в свою очередь, получает атом азота при трансаминировании глутамата с оксалоацетатом. Как известно, атом азота аминогруппы глутамата происходит из аминогрупп аминокислот печени. Поэтому второй атом азота мочевины поступает из фонда аминокислот печени.

В клинико-лабораторной практике оценивают содержание небелковых азотсодержащих компонентов, называемых *остаточным азотом*. В норме остаточный азот составляет 15–25 ммоль/л и включает азот мочевины (50 %), аминокислот (25 %), мочевой кислоты (4 %), креатина (5 %), креатинина (0,5 %), аммиака и индикана (0,5 %).



Гипераммониемии

Гипераммониемии бывают врожденные или развивающиеся при циррозе печени, катаболических состояниях. Лимитирующими реакциями синтеза мочевины являются реакции, катализируемые карбамоилфосфатсинтетазой (1), орнитинтранскарбамоилазой (2) и аргиназой (5). Поскольку цикл мочевины переводит токсичный аммиак в нетоксичную мочевины, все нарушения синтеза мочевины вызывают аммонийную интоксикацию. Эта интоксикация наиболее выражена при дефектах 1 и 2 реакций. Клинические симптомы: рвота в раннем детстве, избегание богатой белками пищи, атаксия, сонливость, отставание в умственном развитии. Для лечения используют диеты, не приводящие к росту аммиака в сыворотке крови. Известны следующие дефекты ферментов цикла мочевины (орнитинового цикла): 1) *гипераммониемия типа I* (дефект карбамоилфосфатсинтетазы, семейное заболевание); 2) *гипераммониемия типа II* (дефект орнитинтранскарбамоилазы,

связан с X-хромосомой); 3) *цитрулинемия* — редкое рецессивно наследуемое заболевание, связанное с дефектом аргининсукцинатсинтетазы и сопровождается выделением с мочой 1–2 г цитрулина в сутки и повышением его содержания в крови и спинномозговой жидкости; 4) *аргининсукцинатацидурия* — редкое рецессивно наследуемое заболевание, характеризуется повышенным выделением с мочой и повышенным содержанием в крови и спинномозговой жидкости аргининосукцината (дефект аргининосукцинатдиазы); 5) *гипераргининемия* — дефект аргиназы, вызывающий повышение количества аргинина в крови и спинномозговой жидкости.

Все дефекты ферментативных превращений в цикле мочевины сопровождаются гипераммониемией, т. е. повышением концентрации NH_4^+ в плазме крови.

Некоторые из этих дефектов проявляются в первые двое суток после рождения ребенка. Эти дефекты ведут к необратимым поражениям мозга и развитию коматозного состояния. Почему же увеличенная концентрация NH_4^+ в крови оказывает токсический эффект? Возможно, что повышенный уровень глутамина, образованного из глутаминовой кислоты и NH_4^+ , за счет осмотических эффектов вызывает отек мозга.

Терапия таких врожденных состояний требует поиска дополнительных биохимических путей вывода избытка NH_4^+ из организма.

1. Для лечения недостаточности *аргининосукцинатдиазы* используют избыток *аргинина* в пище при уменьшении потребления белков. В печени аргинин распадается на мочевины и орнитин; орнитин затем реагирует с карбамоилфосфатом с образованием цитрулина. Цитрулин конденсируется с аспартатом, что ведет к образованию аргининосукцината, который выводится с мочой. В этом случае на каждую мо-



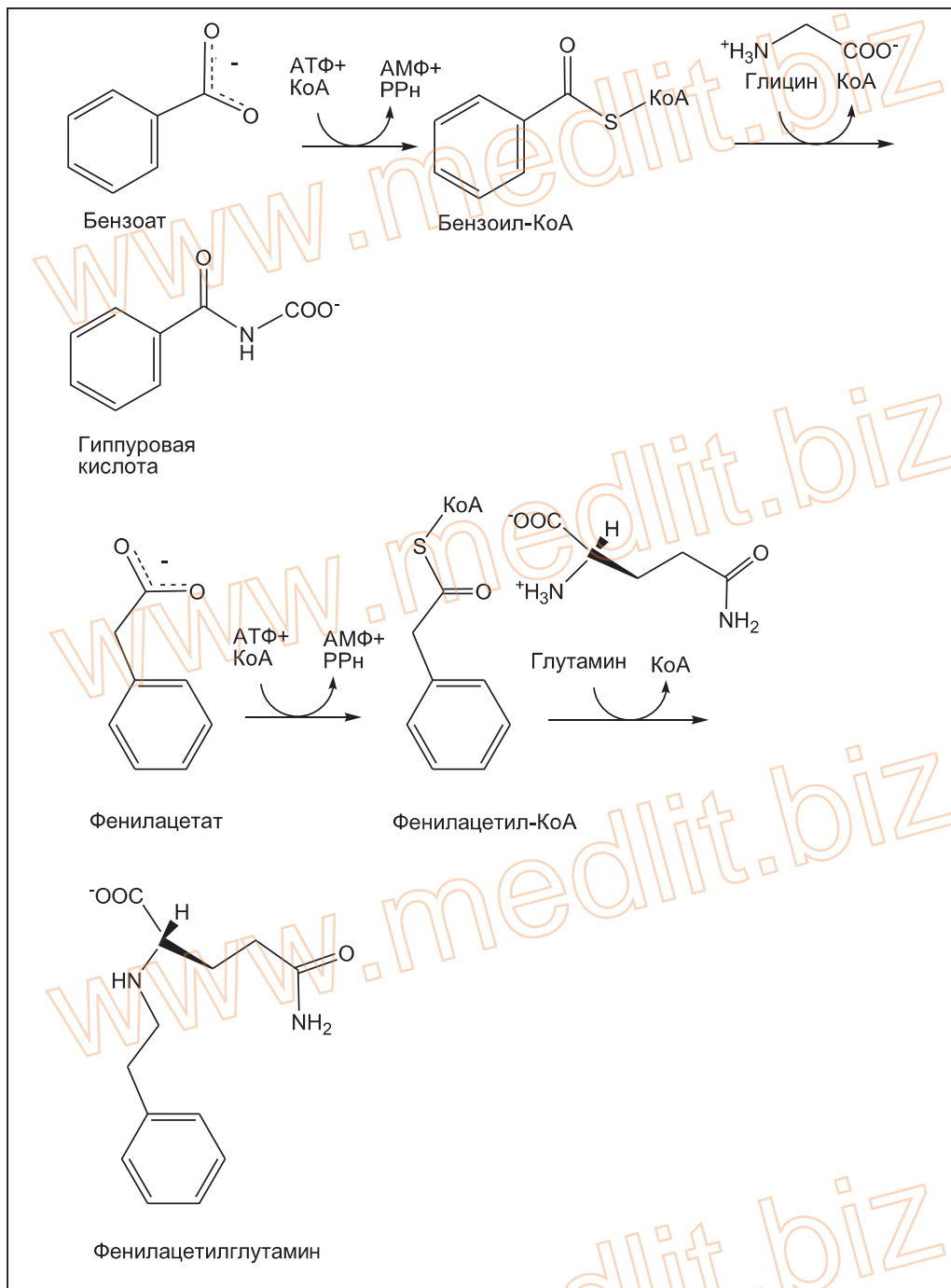


Рис. 21.6. Лечение дефицита карбоамилфосфатсинтазы и орнитинтранскарбамоилазы.



Глава 21 Источники и пути обезвреживания аммиака в организме

лекулу аргинина пищи удается удалить два атома азота из организма (один из карбамоилфосфата, а второй из аспарагиновой кислоты).

2. Лечение дефектов *карбамоилфосфатсинтетазы* и *орнитинтранскарбамоилазы* использует иную стратегию борьбы с гипераммониемией. Цитруллин и аргининосукцинат не могут использоваться для связывания атомов азота, поскольку их синтез нарушен. В этих условиях избыток азота аккумулируется в виде глицина и глутамина. Эти две аминокислоты удаляют из организма путем введения *больших количеств бензойной кислоты или фенилуксусной кислоты на фоне малобелковой диеты*. Бензойная кислота превращается в бензоил-КоА, который затем взаимодействует с глицином и азот с мочой выводится в виде гиппуровой кислоты. Аналогично фенилуксусная кислота активируется в фенилацетил-КоА, который взаимодействует с глутамином и азот выводится с мочой в виде фенилацетилглутамина (рис. 21.6.).



В общем виде приобретенные гипераммониемии возможны в двух ситуациях: 1) поступление аммиака, как при состоянии здоровья, но печень поражена; 2) функция пече-

ни не нарушена, но увеличено поступление аммиака.

При анализе первой ситуации следует учитывать, что все ферменты цикла мочевины, за исключением аргиназы, могут быть во внепеченочных тканях. Но ни в одной из них нет синтеза мочевины. Поэтому при поражении печени возникает гипераммониемия. При циррозе печени из-за порто-кавальных анастомозов содержание аммиака в крови повышается дополнительно, что усугубляет интоксикацию. При катаболических состояниях (травмы, опухоли, кахексия) печень перегружается поступающим аммиаком, который не успевает превратиться в мочевины. Если это состояние осложняется поражением гепатоцитов, возможно развитие печеночной комы. В лечении используют малобелковую пищу, обменное переливание крови и стимуляторы цикла мочевины (аргинин, протамины, не гидролизующийся аналог N-ацетилглутамата — N-карбамоилглутамат).



Материалы из книги:

А. А. Чиркин, Е. О. Данченко

«БИОХИМИЯ: УЧЕБНОЕ РУКОВОДСТВО»