บทที่ 2

การสอบสวนเอกสาร

(Literature Review)

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

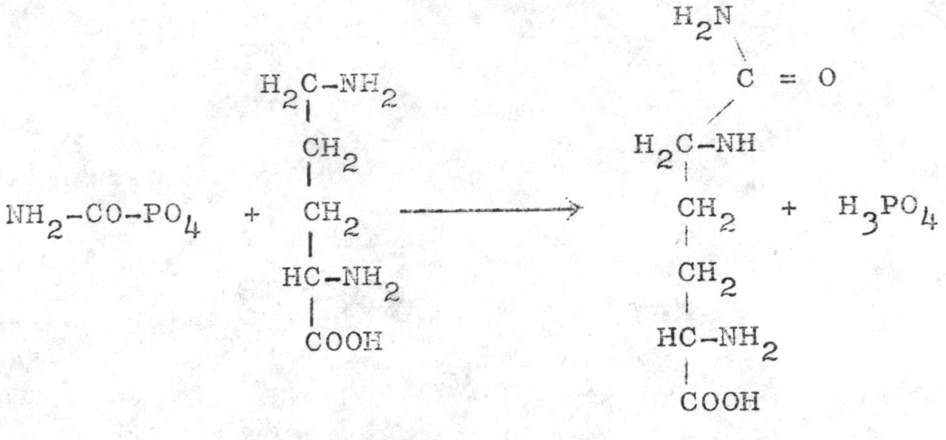
Krebs and Henseleit เป็นผู้ค้นพบ urea cycle ในปี 1932 โดยการ incubate slices ของตับของหนูกับ ammonia และคาร์บอนไดออกไซด์ใน Warburg apparatus และตรวจพบว่ามี urea เกิดขึ้น นอกจากนั้นยังพบว่ากรดอะมิโนบางตัวได้แก่ ornithine, citrulline, arginine และ aspartic acid มีส่วนในการผลิต ammonia ในตับของหนูด้วย (Ratner, 1954) ในปัจจุบันพบว่าปฏิกิริยาใน urea cycle เกิดเป็นลำดับขั้นดังนี้

ขั้นแรก ammonia ที่ได้จากสลายของโปรตีนและกรดอะมิโนจะรวมกับคาร์บอนไดออกไซด์และ ATP เกิดเป็น carbamyl phosphate โดยอาศัยเอ็นไซม์ carbamyl phosphate synthetase

$$NH_3+CO_2+2ATP+H_2O \longrightarrow \underset{\text{carbamyl phosphate}}{NH_2\text{-}CO\text{-}PO_4} +2ADP+P_i$$

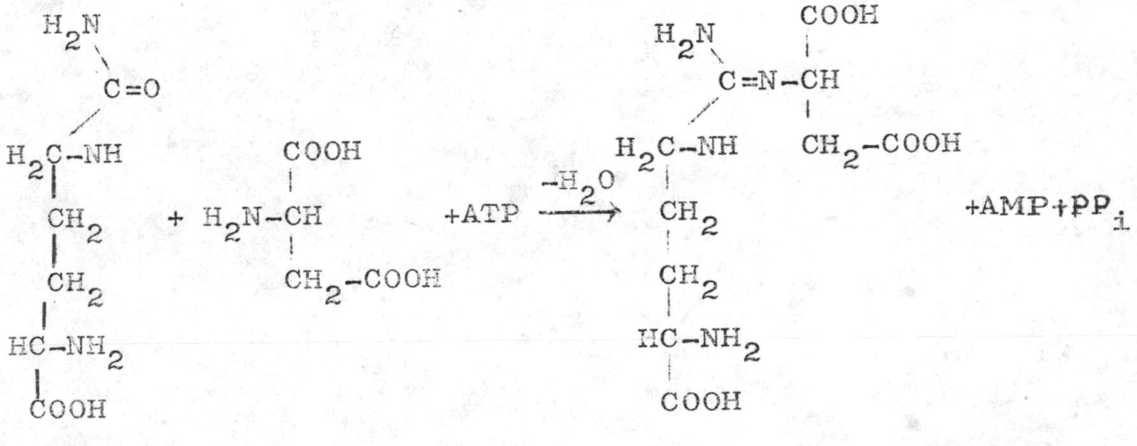
เอ็นไซม์ carbamyl phosphate synthetase นี้ต้องการ N-acetyl-glutamate เป็น cofactor

ในขั้นที่สองของ urea cycle เอ็นไซม์ ornithine transcarbamylase จะทำให้ carbamyl group ของ carbamyl phosphate รวมกับ ornithine เกิดเป็น citrulline ขึ้น



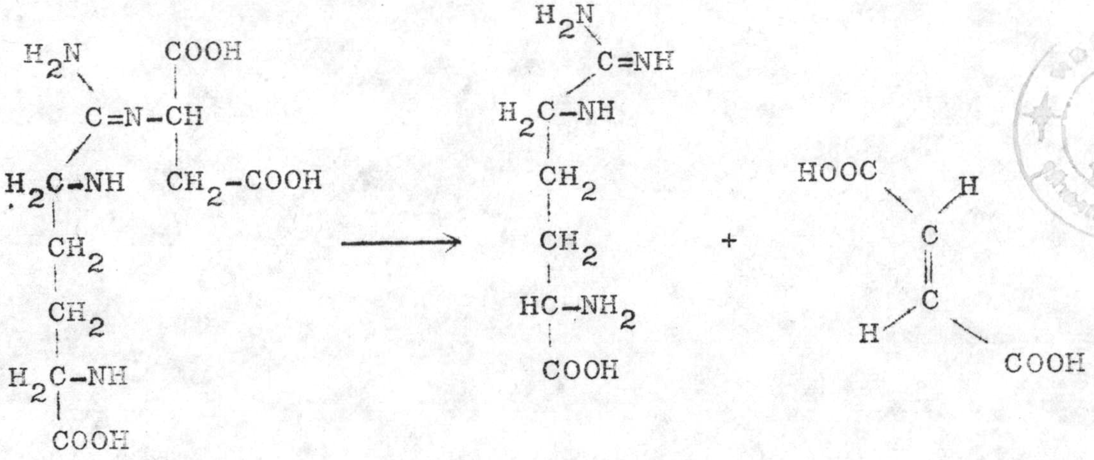
ornithine   citrulline

ขั้นที่สามเอ็นไซม์ argininosuccinate synthetase จะทำให้ carbamyl carbon atom ของ citrulline รวมกับ aspartic acid โดยมี ATP ร่วมด้วยทำให้เกิด argininosuccinic acid



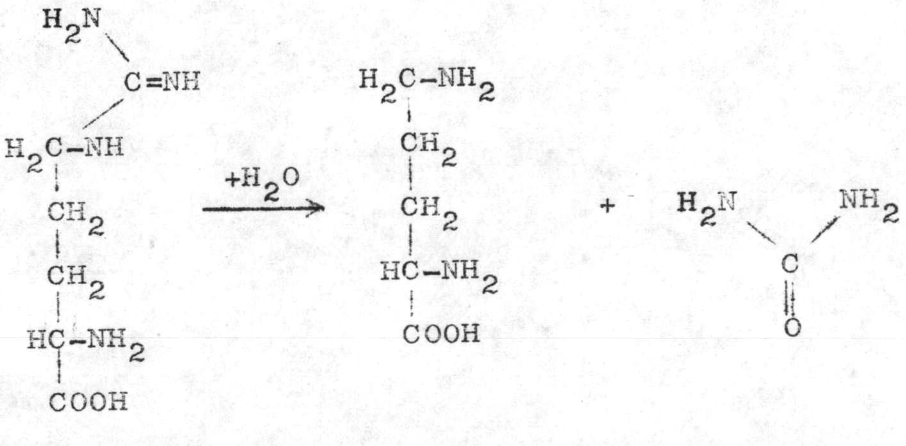
citrulline   aspartic acid   argininosuccinic acid

เอ็นไซม์ argininosuccinase จะย่อย arginosuccinic acid ได้เป็น arginine และ fumaric acid



argininosuccinic acid arginine fumaric acid

ปฏิกริยาขั้นสุดท้ายเอ็นไซม์ arginase จะทำให้ arginine แตกออกเป็น ornithine และ urea



arginine ornithine urea

เอ็นไซม์ ornithine transcarbamylaseซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่ทำปฏิกริยาในขั้นที่สองของ urea cycle นั้น มีผู้ purify ได้เป็นครั้งแรกจากตับของหนู โดย Grisolia and Cohen (1952), Reichard (1957) ก็ได้รายงานวิธี purify ornithine transcarbamylase จากตับของหนู และพบว่าเอ็นไซม์นี้เหมือนกับ citrulline phosphorylase ของ Krebs et al (1955) ต่อมาได้มีผู้รายงานการ purify เอ็นไซม์นี้ในสัตว์อื่นเช่นจากตับของวัว (Burnett and Cohen, 1957) และจากตับสุนัข (Metzenberg et al.,1957,) Joseph, Watts and Baldwin (1964) รายงานวิธีสกัด ornithine transcarbamylase จาก Rana temporaria และ Scylliorchium caniculum (dog fish) นอกจากนี้ยังมีผู้ศึกษา activity ของเอ็นไซม์นี้ในสัตว์ต่าง ๆ เช่น ในกบ Rana catesbeiana (Brown, Brown and Chen, 1959) พบว่า activity ของ ornithine transcarbamylase เพิ่มสูงขึ้นเห็นได้ชัดในขณะที่มี metamorphosis และยังคงเพิ่มสูงขึ้นอีกภายหลัง metamorphosis จนเป็นกบในระยะตัวสำเร็จแล้ว

ornithine transcarbamylaseในตับของตัวอ่อนของหนูและหมูเพิ่มสูงขึ้นตามอายุ ภายหลังคลอด activity ของเอ็นไซม์นี้จะเพิ่มสูงขึ้นจนเท่ากับระดับใน adult ภายในเวลาอันรวดเร็ว (Kennan and Cohen, 1960; Jones et al.,1961; Raiha and Suihkonen, 1968)
Reichard (1960) ศึกษา acivity ของ ornithine transcarbamylase ใน tissue homogenate ของคน พบว่าในตับมีเอ็นไซม์นี้มากที่สุด รองลงมาได้แก่ในลำไส้เล็ก และตรวจพบ ornithine transcarbamylase ในอวัยวะอื่น ๆ เช่น ในปอด, ถุงน้ำดี, กะเพาะ, ลำไส้ใหญ่, สมอง, หัวใจ และกล้ามเนื้อ แต่มี acivity ต่ำมาก Jones et al., (1961) พบ ornithine transcarbamylase จำนวนมากในตับของหนูเช่นเดียวกับในคน นอกจากนี้ยังพบในเยื่อบุผนังลำไส้, ไต และต่อมน้ำลาย แต่มีน้อยกว่าในตับมาก

Schimke (1962) พบว่าการให้อาหารที่มีโปรตีนสูงแก่หนูทำให้ระดับเอ็นไซม์ ornithine transcarbamylase ในตับเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว และการให้อาหารที่มีโปรตีนต่ำหรือไม่มีโปรตีน ทำให้ระดับเอ็นไซม์นี้ในตับลดลง Payne and Morris (1969) ทำการทดลองในแกะพบว่าได้ผลเหมือนกับในหนู แต่การทดลองให้หนูอดอาหารพบว่ากลับทำให้ระดับของ ornithine transcarbamylase เพิ่มสูงขึ้นอย่างมาก (Schimke, 1962 a)

Mc.Lean and Gurney, (1963) ได้ทำการทดลองตัดต่อมหมวกไตของหนูพบว่าทำให้ระดับเอ็นไซม์ ornithine transcarbamylase ในตับหนูลดลงอย่างรวดเร็ว แต่การให้ growth hormone ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับของเอ็นไซม์นี้เพียงเล็กน้อย

นอกจากการศึกษา ornithine transcarbamylase ในสัตว์มีกระดูกสันหลังแล้วยังพบอีกว่าสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลังก็มีเอ็นไซม์นี้เช่นใน hepato-pancrease ของ <u>Otala lactea</u> (terrestrial snail) (Linton and Campbell, 1962) และในพยาธิตัวตืด <u>Hymenolepis diminuta</u> (Campbell, 1963)

เอ็นไซม์ arginase เป็นเอ็นไซม์ซึ่งทำปฏิกริยาในขั้นสุดท้ายของ urea cycle นั้น ได้มีผู้ทำการศึกษามากกว่าเอ็นไซม์อื่นใน cycle นี้ Kossel and Dakin (1940) เป็นผู้พบว่าเอ็นไซม์ arginase สามารถทำให้ L-arginine แตกออกเป็น ornithine และ urea (Mohamed and Greenberg, 1945) จากการศึกษาสมบัติของเอ็นไซม์ arginase ในสัตว์ต่าง ๆ เช่น ในตับและต่อมน้ำนมของหนู (Folley and Greenbaum, 1948), ตับของวัว (Robbins and Shields, 1952) ตับของม้า (Greenberg, 1955) ตับของกบ <u>Rana catesbeiana</u> (<u>Brown, Brown and Cohen, 1959</u>) <u>Rana temporaria</u> (Balinsky and Baldwin, 1962), ตับของหนู (Schimke, 1962), ตับของ mexican axolotl;

Ambystoma mexicanum (Palacois et al.,1968 - 1969) รวมทั้งในหอย Otala lactea (Linton and Campbell, 1962) และในพยาธิตัวตืด Hymenolepis diminuta (Campbell, 1963) พบว่ามีลักษณะใกล้เคียงกันคือจะสูญเสีย activity ได้ง่ายโดยการทำให้เจือจาง, manganous ion มีส่วนสำคัญในการช่วยรักษา activity ของเอ็นไซม์และทำให้เอ็นไซม์ arginase มี activity ดีขึ้น, pH optimum ของเอ็นไซม์ arginase อยู่ระหว่าง 9.0 - 10.0

การศึกษา activity ของเอ็นไซม์ arginase ในตับและต่อมน้ำนมของหนู (Folley and Greenbaum, 1947) พบว่ามีระดับสูงขึ้นขณะตั้งท้องและมีการมีการสร้างน้ำนม เชื่อว่าในต่อมน้ำนมมี arginase มากเป็นที่สองรองจากในตับ และ arginase ในต่อมน้ำนมนี้อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการสร้างส่วนประกอบของน้ำนม

การศึกษาเอ็นไซม์ arginase ในตับของตัวอ่อนของหนูและหมู (Kennan and Cohen, 1960; Raiha and Suihkonen, 1968) พบว่า activityของเอ็นไซม์นี้เพิ่มสูงขึ้นเมื่อตัวอ่อนมีอายุมากขึ้น และภายหลังคลอด activity ของเอ็นไซม์จะเพิ่มสูงขึ้นจนเท่ากับระดับใน adult ภายในเวลารวดเร็ว

activity ของเอ็นไซม์ arginase ในตับของ Rana catesbeiana (Brown, Brown and Cohen, 1959), Rana hecksheri และ Bufo terrestris (Dolphin and Frieden, 1955) เพิ่มสูงขึ้นขณะมี metamorphosis และยังคงเพิ่มขึ้นอีกภายหลัง metamorphosis เป็นระยะตัวสำเร็จแล้ว

Brown and Cohen (1960) ศึกษาเอ็นไซม์ใน urea cycle ในสัตว์มีกระดูกสันหลังชนิดต่าง ๆ พบว่าเอ็นไซม์ arginase มีอยู่ในตับของ Urodela, Anuran, สัตว์เลื้อยคลานและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม นอกจากนั้นยังพบเอ็นไซม์นี้ในไก่ (Eliasson, 1962) และปลากระดูกแข็งด้วย (Cvancara, 1969)

Dolphin and Frieden (1955) ทดลองให้ thyroid hormone; tridiodothyronine และ thyroxine แก่ Bufo terrestris และ Rana hecksheri ในขณะที่มี metamorphosis พบว่าทำให้เอ็นไซม์ arginase เพิ่มสูงขึ้นเร็วกว่าปกติและการตอบสนองของเอ็นไซม์ต่อ thyroid hormone เกิดได้เร็วกว่าการเปลี่ยนแปลงลักษณะรูปร่างภายนอก

การให้อาหารที่มีโปรตีนสูงแก่หนู (Folley and Greenbaum, 1946, Mandelestam and Yudkin, 1952; Ashida and Harper, 1961; Schimke, 1962; Freeland and Sodikoff, 1962) และแกะ (Payne and Morris, 1966) ทำให้ activity ของเอ็นไซม์ arginase ในตับเพิ่มสูงขึ้นกว่าระดับปกติ และการให้อาหารที่มีโปรตีนต่ำหรือไม่มีโปรตีนทำให้ระดับเอ็นไซม์นี้ต่ำกว่าระดับปกติ Raiha and Suihkonen (1968) ทำการทดลองพบว่าการให้ puromycin ซึ่งเป็นสารที่ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน ก็มีผลทำให้ activity ของ arginase ลดต่ำลงเช่นกัน แต่การให้หนูอดอาหารกลับทำให้ระดับเอ็นไซม์ arginase เพิ่มสูงขึ้น (Schimke, 1962 a) การทดลองในไส้เดือนดิน Lumbricus terrestris (Cohen and Lewis, 1950) พบว่าการให้อดอาหารทำให้เอ็นไซม์ arginase มี activity ลดลงสูงขึ้นเช่นกัน

Bach et al, (1963)และ Mc. Lean and Gurney (1963) ได้ทำการทดลองตัดต่อมหมวกไตของหนูออกแล้วพบว่าระดับเอ็นไซม์ arginase ลดลง เมื่อให้ adrenal corticoid แก่หนูที่ถูกตัดต่อมหมวกไตพบว่า activity ของเอ็นไซม์เพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อให้ growth hormone กลับทำให้activity ของ arginase ในตับลดลง

การตรวจพบ arginase ในไตของ amphibian หลายชนิดทำให้เชื่อว่ามีการสังเคราะห์ urea เกิดขึ้นในไตด้วยและ arginase อาจมีส่วนในการทำให้ urea ผ่านเข้าสู่หลอดไต (Boardsky et al., 1955; Schmidt-Neilsen and Shrauger, 1963; Carlsky et at., 1968)