

Н. А. ЮДАЕВ

ОТКРЫТИЕ КАРНОЗИНА И АНСЕРИНА В СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЕ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА РАСПРЕДЕЛИТЕЛЬНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ НА БУМАГЕ

(Представлено академиком Л. А. Орбели 29 VI 1949)

Вопрос о содержании карнозина в сердечной мышце неоднократно подвергался обсуждению. Еще в 1912 г. были проведены исследования, говорящие о наличии этого вещества в сердечной мышце⁽¹⁾. Однако эти данные не могут считаться достоверными, так как авторы судили о количестве дипептида по общему азоту так называемой карнозиновой фракции и, следовательно, определяли не карнозин, а сумму азотсодержащих веществ, входящих в серебряно-баритовый осадок. Также не нашли признания данные о содержании карнозина в сердечной мышце человека, полученные при помощи диазореакции Паули⁽²⁾, так как не было никаких доказательств, что развивающаяся окраска обусловлена именно карнозином, а не другими веществами.

Попытки изолировать карнозин из сердечной мышцы не дали решающих результатов⁽³⁾, хотя позднее тому же автору⁽⁴⁾ удалось получить незначительное количество кристаллов, представляющих собою, по его мнению, медную соль карнозина. А. Н. Паршин, применив предложенный им метод для определения карнозина⁽⁵⁾, пришел к категорическому выводу, что сердечная мышца не содержит карнозина и что все положительные данные предыдущих авторов по этому вопросу являются ошибочными. Упомянутый метод, основанный на определении аминокислоты по Ван-Сляйку до и после ферментативного гидролиза карнозина, также не может считаться безупречным. Во-первых, нет оснований утверждать, что в биологических жидкостях, кроме карнозина, не содержится других дипептидов, а во-вторых, применение метода Ван-Сляйка для определения небольших количеств веществ с большим молекулярным весом и одной аминокислотной группой является мало надежным.

Таким образом, вопрос о наличии карнозина и ансерина в сердечной мышце попрежнему оставался открытым. Вместе с тем, решение этого вопроса имеет принципиальное значение, так как известно, что сердечная мышца развивается из иного источника, чем скелетная мускулатура, и сходство ее с последней является результатом конвергентного развития.

Имея в своем распоряжении чрезвычайно чувствительный и абсолютно специфический метод определения карнозина⁽⁶⁾, мы предприняли исследование с целью решения поставленного вопроса. Объектом исследования служила сердечная мышца лягушки и кролика. Вначале мы провели несколько определений карнозина с помощью диазореакции в модификации, предложенной Н. П. Мешковой⁽⁷⁾.

Полученные результаты приведены в табл. I.

Содержание карнозина в сердечной мышце лягушки и кролика
в мг на 100 г сырой ткани

| | №№ опытов | | | | | |
|-------------------------|-----------|------|------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Сердечная мышца лягушки | 95,2 | 90,9 | 85,5 | 88,4 | 90,9 | 8,65 |
| Сердечная мышца кролика | 27,3 | 32,0 | 34,5 | 22,7 | 23,1 | — |

Относительно экстрактов из скелетной мышцы известно, что окраска, развивающаяся при диазореакции, лишь на 4—5% обусловлена веществами, сопутствующими карнозину (8, 9). Что касается сердечной мышцы, то этот вопрос не изучен, и, как мы уже упоминали выше, данные, полученные этим методом, не признаются достоверными. Тем не менее, для нас эти опыты имеют ценность, так как они показывают, что даже если диазореакцией определяется только карнозин, то и в этом случае количество его в сердечной мышце в 3—4 раза меньше, чем в скелетной мускулатуре того же животного (10). Для окончательного решения вопроса о наличии азотистых оснований в сердечной мышце мы применили метод распределительной хроматографии на бумаге (11) с дополнениями, описанными ранее (6). Исследованию подвергался фильтрат после разложения ртутного осадка сероводородом (6). Приведенные фотографии хроматограмм не оставляют сомнения в том, что сердечная мышца лягушки содержит карнозин, а сердечная мышца кролика — карнозин и ансерин (рис. 1 и 2).

Убедительность полученных данных определяется следующими моментами: а) карнозин и ансерин дают характерную синюю окраску, видимому, специфическую для этих веществ; б) синие пятна, получающиеся с исследуемыми растворами, располагаются на одной высоте с пятнами — стандартами, а в опытах без соляной кислоты меняют положение синхронно с последними; в) гидролизаты исследуемых фильтратов не дают синих пятен на хроматограмме, вместо этого появляются пятна, соответствующие β -аланину, и усиливаются пятна, соответствующие гистидину.

Проведенный анализ наглядно показывает, что количество карнозина в сердечной мышце лягушки значительно меньше тех величин, которые определяются с помощью диазореакции. Во-первых, это видно из того, что пятно карнозина в исследуемом растворе значительно слабее стандарта, хотя фильтрат наносился в таком количестве, что при правильности данных колориметрии пятна были бы одинаковы. Во-вторых, несколько ниже карнозина мы постоянно обнаруживали пятно, по положению и окраске соответствующее гистидину, также дающему окраску с диазореактивом. На рис. 1 дана хроматограмма к опыту № 6: I — ансерин 20 μ г, II — карнозин 20 μ г; 1 — фильтрат из сердечной мышцы лягушки в количестве, соответствующем 30 мг ткани; X — пятно, обусловленное гистидином.

Желая выяснить, содержатся ли интересующие нас азотистые основания в гладкой мышце, мы подвергли хроматографическому анализу мускулатуру желудка кролика и подтвердили данные других авторов (12) об отсутствии в ней этих веществ.

Таким образом, три типа мускулатуры, развившиеся из различных тканевых источников и находящиеся на различных ступенях функциональной эволюции, различаются между собою по содержанию карнозина и ансерина. Однако в отношении сердечной мышцы кролика нам

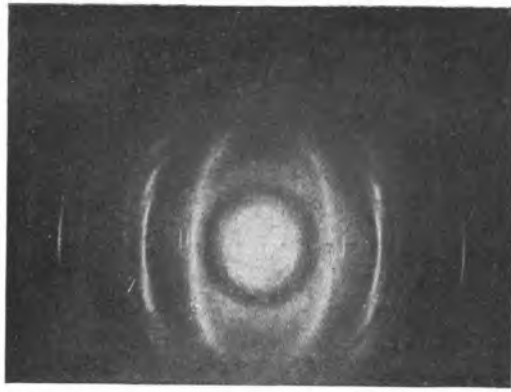


Рис. 1. Косой снимок монтмориллонита

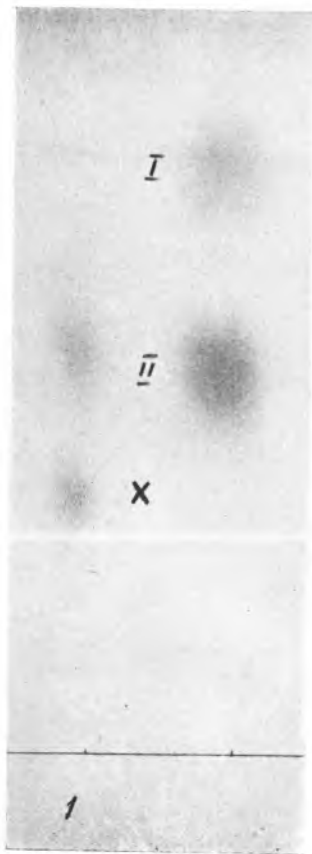


Рис. 1.

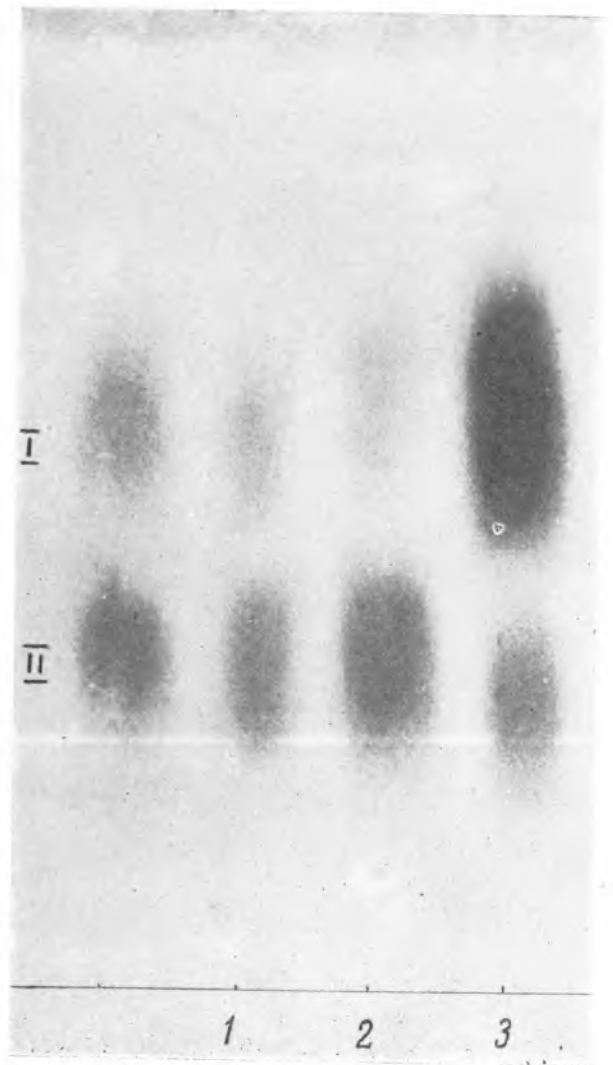


Рис. 2.

кажется наиболее интересным не низкое содержание изучаемых дипептидов, а их соотношение. Изучая эти вещества в мышцах кроликов на различных стадиях индивидуального развития, мы установили, что мышечная ткань эмбриона содержит незначительное количество карнозина, на 5—6-й день постнатального развития при значительном количестве карнозина появляются следы ансерина и, наконец, мышца взрослого кролика содержит ансерина в 4—5 раз больше, чем карнозина. Сердечная мышца, находящаяся, согласно представлениям Л. А. Орбели (13), на более низком уровне функциональной эволюции, чем соматическая мускулатура, содержит ансерина значительно меньше, чем карнозина (рис. 2), и по этому признаку может быть приравнена к скелетной мускулатуре новорожденных кроликов. На рис. 2 дана хроматограмма: I — ансерин 20 мкг, II — карнозин 20 мкг; 1 — фильтрат из сердечной мышцы кролика в количестве, соответствующем 60 мг ткани, 2 — фильтрат из скелетной мышцы 5-дневного кролика в количестве, соответствующем 30 мг ткани, 3 — то же из мышцы взрослого кролика.

В настоящее время вряд ли можно сомневаться в том, что эволюция сократительных тканей находится в неразрывной связи с эволюцией биохимических процессов. Имея в виду данные С. Е. Северина и сотрудников (14) об ускоряющем влиянии карнозина и ансерина на процессы связывания минерального фосфата в скелетных мышцах, можно допустить, что появление дипептидов, содержащих гистидин и β-аланин, является признаком совершенствования биохимических превращений в поперечно-полосатой мускулатуре по сравнению с гладкой, находящейся на более низком эволюционном уровне функционального развития и не содержащей этих веществ*.

Приношу глубокую благодарность проф. С. Е. Северину за руководство при проведении работы.

Поступило
23 VI 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ G. Buglia u. A. Costantino, *Zs. physiol. Chem.*, **81**, 120 (1912). ² F. Вубаповић, *Biochem. Zs.*, **92**, 125 (1918). ³ М. Могилевский, *Бюлл. ВИЭМ*, **5**, 42 (1935). ⁴ М. Могилевский, *Бюлл. эксп. биол. и мед.*, **4**, 175 (1937). А. Н. Паршин, *Биохимия*, **4**, 555 (1939); *Усп. химии*, **10**, 668 (1941). ⁵ Н. А. Юдаев, *ДАН*, **67**, № 6 (1949). ⁶ Н. П. Мешкова, *Физиол. журн. СССР*, **20**, 896 (1936). ⁷ G. Hunter, *Biochem. Journ.*, **16**, 640 (1922). ⁸ J. Zarr and D. Wilson, *Journ. Biol. Chem.*, **126**, 9 (1938). ⁹ Н. А. Юдаев, *Биохимия*, **14**, 51 (1949). ¹⁰ R. Williams and H. Kirby, *Science*, **107**, 481 (1948). ¹¹ А. Н. Паршин, *Бюлл. эксп. биол. и мед.*, **5**, 93 (1938). ¹² Л. А. Орбели, *Тр. Физиол. ин-та им. Павлова*, **1**, 3 (1945). ¹³ С. Е. Северин, В. И. Иванов, Н. П. Карузина и Р. Я. Юделович, *Биохимия*, **13**, 158 (1948).

* Интересно отметить, что в гладкой мышце обнаружен гистидин (12) и что в сердечной мышце при малом количестве карнозина содержится гистидина больше, чем в скелетной мускулатуре.