

Действительный член Академии медицинских наук СССР

А. Е. БРАУНШТЕЙН и Г. Я. ВИЛЕНКИНА

РОЛЬ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ В ОБРАЗОВАНИИ ГЛИЦИНА ИЗ β -ОКСИАМИНОКИСЛОТ ФЕРМЕНТАМИ ПЕЧЕНИ

В 1950 г. с помощью изотопного метода было показано, что образование глицина из серина в организме цыплят нарушается при недостаточности фолиевой (птеронилглутаминовой) кислоты (1). Тем же методом было установлено, что упомянутый авитаминоз сопровождается нарушением биосинтеза серина из глицина и муравьиной кислоты в организме крысы (2) и в гомогенатах печени кур (3).

При фолиевой недостаточности нарушено также образование ряда других веществ, в биосинтезе которых участвуют глицин и муравьиная кислота, а именно — пуриновых оснований, порфиринов, креатина, холина. Некоторые авторы высказывают предположение (не подкрепленное прямыми экспериментальными данными), что роль фолиевой кислоты в указанных биохимических процессах и, в частности, во взаимопревращениях серина и глицина может быть объяснена ее участием в энзиматическом переносе одноуглеродного остатка (муравьиной кислоты или формальдегида (2)). В связи с этим интересно отметить, что одно из производных фолиевой кислоты, обладающих витаминной активностью, — ризоптерин — представляет собой формил-фолиевую кислоту.

В 1949 г. мы (4) установили наличие в печени и почках различных животных ферментной системы («глициногеназы»), образующей глицин не только из серина, но также из треонина и других β -оксиаминокислот.

Было показано, что расщепление β -оксиаминокислот протекает по типу альдольного разуплотнения, при котором наряду с глицином образуются соответствующие альдегиды или кетоны, например ацетальдегид из треонина и аллотреонина (5). Одноуглеродный остаток (формальдегид) может образоваться только при действии глициногеназы на серин, но не при расщеплении высших β -оксиаминокислот. Ввиду этого представлялось существенным провести сравнительное исследование роли фолиевой кислоты в энзиматическом расщеплении серина и его гомологов.

Соответствующие опыты, проведенные нами на цыплятах и крысах, показали, что при недостаточности фолиевой кислоты расщепление аллотреонина и треонина в срезах и гомогенатах печени протекает с нормальной скоростью, тогда как образование глицина из серина прекращается полностью. Эти данные с большой определенностью указывают на то, что образование глицина из серина и из его гомологов осуществляется не одной и той же, а различными ферментными системами. Существование двух (или нескольких) «глициногеназ» подтверждается также имеющимися в нашем распоряжении данными о различиях в распространении и свойствах этих ферментов.

Постановка опытов. Цыплята белый леггорн 1-дневного возраста переводились на синтетический рацион без фолиевой кислоты (6); контрольные птицы получали ту же диету с добавлением 2 мг фолиевой кислоты на 1 кг сухого рациона или обычный смешанный корм. Через 3—4 недели у опытных цыплят развивались признаки фолиевой недостаточности: остановка роста, падение гемоглобина крови с 60—85 до 25% по гемометру Сали, нарушенное развитие оперения, растяжение желчного пузыря и относительное (в процентах от общего веса) увеличение печени (см. рис. 1).

Белые крысы весом около 40 г содержались на синтетическом рационе без фолиевой кислоты (2) с добавлением 1,5—2% фталазола для подавления синтеза фолиевой кислоты кишечными микроорганизмами. Контрольные крысы получали ту же диету с добавлением фолиевой кислоты (20 γ в день). Признаки фолиевой недостаточности проявились



Рис. 1

у крыс в конце 5-й недели. Так, вес опытных крыс составлял в среднем 99 г (от 77 до 118 г), вес контрольных — в среднем 128 г (от 117 до 160 г). Среднее содержание гемоглобина в крови было, соответственно, 52% (от 45 до 58%) и 79% (от 65 до 90%) по Сали. Число лейкоцитов в крови всех крыс с фолиевой недостаточностью снижалось в несколько раз (до 2—4 тыс. в 1 мм^3).

Некоторым крысам с резкими признаками авитаминоза давали в течение 4 дней большие дозы фолиевой кислоты (0,2 мг в день внутрибрюшинно и с пищей по 4 мг на 1 кг сухого рациона). В конце этого периода содержание гемоглобина и число лейкоцитов в крови этих крыс повысилось до нормального уровня. Эти крысы были взяты в опыт как контрольные; в таблицах они обозначены термином «леченные».

Ткань печени цыплят и крыс в виде срезов или гомогенизированной суспензии инкубировали с серином, аллотреонином или треонином в фосфатном буфере (рН 7,6). После осаждения белков трихлоруксусной кислотой в фильтрах производилось фотометрическое определение глицина (4).

Результаты опытов и обсуждение. Данные опытов с гомогенизированной печенью цыплят приведены в табл. 1, из которой видно, что у всех птиц с недостаточностью фолиевой кислоты образование глицина из серина отсутствовало, тогда как из аллотреонина отщеплялось столько же глицина, как и при нормальном смешанном питании. У контрольных цыплят, получавших с синтетическим рационом относительно большие дозы фолиевой кислоты, в ряде случаев наблюдалось значительное снижение прироста глицина за счет аллотреонина, с серином же во многих опытах прирост отсутствовал.

Это парадоксальное явление нашло объяснение в проверочных опытах, в которых гомогенаты печени цыплят инкубировались с добавлением глицина (табл. 1). Оказалось, что в суспензии печени цыплят, получавших фолиевую кислоту, исчезает значительно больше глицина, чем в ткани печени нормальных и авитаминозных цыплят. Исследование методом распределительной хроматографии показало, что в ткани печени после нагрузки цыплят фолиевой кислотой имеет место усиленное образование серина из глицина (добавленного или образующегося из

аллотреонина). По данным литературы, в тех же условиях можно ожидать повышенное использование глицина для синтеза пуринов в печени птиц. Таким образом, пониженное накопление глицина в печени цыплят после введения значительных доз фолиевой кислоты можно объяснить повышением интенсивности вторичных превращений образующегося глицина.

Выводы, сделанные нами на основании опытов с цыплятами, нашли полное подтверждение в дальнейших опытах на крысах, давших еще более четкие результаты, так как у крыс слабо выражены вторичные превращения глицина в ткани печени (возможно, ввиду малой интенсивности синтеза пуринов). В этих опытах применялись наряду с гомогенатами срезы печени; субстратами служили *DL*-серин, *DL*-треонин и *DL*-аллотреонин. Следует отметить, что применялся треонин высокой чистоты, свободный от аллотреонина. Примесью последнего в ранее использованных препаратах объясняются значительно большие величины расщепления треонина, приведенные нами в предыдущих сообщениях (4, 5).

Данные табл. 2 показывают, что у крыс с недостаточностью фолиевой кислоты образование глицина из серина отсутствует во всех опытах, тогда как у контрольных крыс, получающих либо смешанный корм, либо фолиевую кислоту в умеренных (профилактических) дозах или в

Таблица 1

Влияние недостатка и избытка фолиевой кислоты в питании на превращения β -оксиаминокислот и глицина в гомогенатах печени цыплят (прирост или убыль глицина в $\mu\text{M}/\text{г}$)

Рацион цыплят	Добавленный субстрат		
	серин (0,015 М)	аллотреонин (0,015 М)	глицин (0,001 М)
Синтетический без фолиевой к-ты	0	28,8	—
	0	39,6	—
	0	45,0	—
	0	38,6	—
	0	36,0	—
	0	42,0	—
	0	44,0	—
Смешанный корм	0	44,5	0
	5,5	52,0	—
	6,7	33,7	—
	4,4	36,0	—
Синтетический с добавлением фолиевой к-ты	—	30,0	0
	—	45,5	—28,8
	2,3	19,6	—26,4
	4,1	41,2	—6,8
	—	13,4	—
	3,6	18,0	—
	0	36,0	—
	4,4	31,5	—
	0	39,0	—
	8,4	20,8	—
0	36,0	—	
2,6	24,6	—	
0	53,0	—	

Таблица 2

Влияние недостаточности фолиевой кислоты в питании на образование глицина из серина в ткани печени крыс (прирост глицина в $\mu\text{M}/\text{г}$)

Группы крыс	Прирост глицина	
	гомогенаты печени	срезы печени
Опытные (синтет. рацион без фолиевой к-ты) . . .	0; 0; 0;	0; 1,4; 0; 0; 0; 0
Контрольные:		
а) на смешанном корме	4,3; 4,3	12,0
б) на синтет. рационе с фолиевой к-той	2,9; 4,0	12,5
Леченные (нагрузка фолиевой к-той в течение 4 дней после развития недостаточности)	8,6; 3,9; 4,8	12,0; 7,3; 12,0; 12,0

больших (лечебных) дозах после развития авитаминоза, из серина всегда образуется глицин в количествах, довольно постоянных в наших условиях опыта, а именно 7,5—12,5 $\mu\text{M}/\text{г}$ в срезах и 3—5 $\mu\text{M}/\text{г}$ в гомогенатах печени.

Что касается образования глицина из α -амино- β -оксисмалевых кислот, то оно протекает с одинаковой интенсивностью у крыс, получавших рацион без фолиевой кислоты, нормальный корм или добавочные дозы фолиевой кислоты, причем величины превращения примерно одинаковы в срезах и в гомогенатах печени (5—9 $\mu\text{M}/\text{г}$ для треонина и 30—60 $\mu\text{M}/\text{г}$ для аллотреонина).

Таблица 3

Влияние недостаточности фолиевой кислоты в питании на образование глицина из треонина и аллотреонина в ткани печени крыс
(прирост глицина в $\mu\text{M}/\text{г}$)

Группы крыс	Гомогенаты печени		Срезы печени	
	треонин	аллотреонин	треонин	аллотреонин
Опытные (без фолиевой к-ты)	11,5; 7,2; 5,8	51,0; 44,8; 37,4	6,0; 5,9	37,4; 37,4
Контрольные	8,6; 7,2; 5,8	45,9; 63,0; 50,8	—	—
Леченные	8,0; 4,8; 5,3	25,1; 31,2; 35,0	4,8	40,8; 56,0

Таким образом, наши опыты показали, что активность глициногеназной системы, расщепляющей треонин и аллотреонин, как у цыплят, так и у крыс независима от степени обеспечения организма фолиевой кислотой. В противоположность этому, ферментная система, образующая глицин из серина, у обоих видов животных полностью инактивируется при недостаточности фолиевой кислоты. Представляется, однако, мало вероятным, чтобы фолиевая кислота как таковая служила коферментом при этом превращении, так как добавлением ее к гомогенатам печени авитаминозных животных, по нашим данным, не удается восстановить способность к образованию глицина из серина.

Институт биологической и медицинской химии
Академии медицинских наук СССР

Поступило
28 VII 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ D. Elwyn and D. Sprinson, Journ. Biol. Chem., 184, 475 (1950)
² J. W. E. Plaut, J. F. Bethel and H. Lardy, *ibid.*, 184, 795 (1950).
³ J. R. Totter et al., *ibid.*, 186, 145 (1950). ⁴ А. Е. Браунштейн и Г. Я. Виленкина, ДАН, 64, 243 (1949). ⁵ Г. Я. Виленкина, ДАН, 69, 385 (1949).
⁶ J. J. Olesson et al., Journ. Biol. Chem., 165, 371 (1946).