

Н. П. МЕШКОВА и Н. А. МАЛЫШЕВА

**ВЛИЯНИЕ КАРНОЗИНА И АНСЕРИНА НА УГЛЕВОДНО-  
ФОСФОРНЫЙ ОБМЕН ГРУДНЫХ (КРАСНЫХ) МЫШЦ ГОЛУБЯ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 10 IX 1951)

При изучении вопроса о влиянии карнозина на обмен веществ в грудных мышцах голубя (1) было показано, что при инкубации мышечной ткани в фосфатном буфере в присутствии фтористого натрия добавление карнозина вызывало добавочное связывание фосфора и накопление трудногидролизуемой нерастворимой бариевой фракции (фракции фосфоглицериновой кислоты). Было высказано предположение, что добавление карнозина и ансерина ускоряет реакцию оксидоредукции, связанную с окислением фосфоглицеринового альдегида в фосфоглицериновую кислоту. В качестве субстрата реакции применялся гликоген.

Настоящее исследование было проведено с фруктозодифосфатом в качестве субстрата реакции. Такая постановка исследования позволяла следить за влиянием карнозина на реакцию оксидоредукции не только по накоплению фосфоглицериновой кислоты (Фгл. к-та), но и по убыли фруктозодифосфата (ФДФ). Это исключало возможность объяснять накопление фосфоглицериновой кислоты как результат ускорения гликолиза на первых его этапах (ускорение фосфоглюкомутазной реакции).

Постановка опытов. Инкубация ткани (измельченная грудная мышца голубя) проводилась в фосфатном буферном растворе\*.

Во все пробы добавляется фтористый натрий из расчета конечной его концентрации в 0,025 М. Опыты ставились в атмосфере кислорода. К части проб добавлялся фруктозодифосфат из расчета 30 мг монобариевой соли на пробу в 3 мл. Бариевая соль фруктозодифосфата переводилась в натриевую. Часть проб содержала карнозин (около 30 мг на пробу). Время инкубации — 40—45 мин. Инкубация прекращалась добавлением равного объема 5% раствора трихлоруксусной кислоты. рН опытных проб проверялся капельным буферным методом с универсальным индикатором. В пробах до инкубации водородный показатель колебался в пределах 7,3—7,4, в пробах после инкубации в пределах 6,8—7,0. Фосфоглицериновая кислота определялась колориметрически по цветной реакции с нафторезорцином по видоизмененному нами методу Раппопорта. Фруктозодифосфат определялся по фруктозе цветной реакцией с резорцином (2).

Во всех опытах при добавлении карнозина наблюдалась большая убыль фруктозодифосфата и большее накопление фосфоглицериновой кислоты. При этом практически весь фосфор дополнительно исчезнувшего фруктозодифосфата открывался в виде дополнительно образовавшейся фосфоглицериновой кислоты (см. табл. 1). Накопления легко гидролизуемого фосфата (АТФ — аденозинтрифосфорная кислота) не наблюдалась. Количество АТФ в пробах до инкубации часто было больше, чем в пробах после инкубации. Это вполне объясняется высокой активностью аденозинтрифосфатазы мышечной ткани (3).

\* Состав буферного раствора: 100 мл 0,9% раствора NaCl, 4 мл 1,15% раствора KCl, 45 мл 0,15 М раствора Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1 мл 3,82% раствора MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O.

В дальнейшем для улавливания АТФ, образующейся как в процессе реакции оксидоредукции, так и в процессе окислительного фосфорилирования, опыты ставились с добавлением креатина как акцептора фосфатных групп АТФ. Креатин добавлялся в количестве 10 мг на пробу.

Таблица 1

Влияние карнозина на реакцию оксидоредукции  
(найдено мг фосфора на пробу)

Дата	До инкубации		После инкубации										
	ФДФ	Фгл. к-та	без добавок		с ФДФ				с ФДФ и карнозином				
			ФДФ	Фгл. к-та	ФДФ		Фгл. к-та		ФДФ		Фгл. к-та		
					исчезло за время инкубации	образов. за счет добав. ФДФ	исчезло за время инкубации	образов. за счет добав. ФДФ					
а	б	в	г	д	а-д	е	е-г	ж	а-ж	з	з-г		
1950 г.													
30 IX . . .	2,00	0	0	0,34	0,83	1,17	1,24	0,90	0,56	1,44	1,70	1,36	
15 XI . . .	1,79	0	0	1,03	0,92	0,87	1,99	0,96	0,51	1,28	2,39	1,36	
7 XII . . .	1,78	0	0	0,78	0,68	1,10	1,85	1,07	0,44	1,34	2,33	1,55	

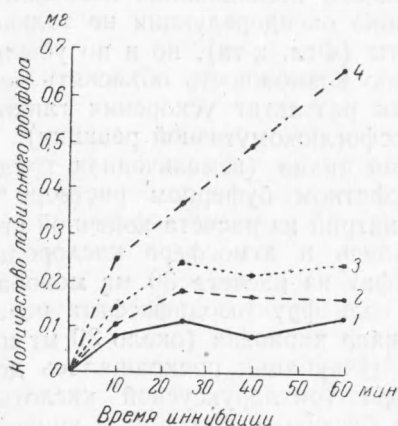


Рис. 1. Влияние времени инкубации на образование лабильного фосфора. 1—без добавок, 2—с креатином (20 мг), 3—с карнозином (40 мг), 4—с креатином (10 мг) и карнозином (20 мг)

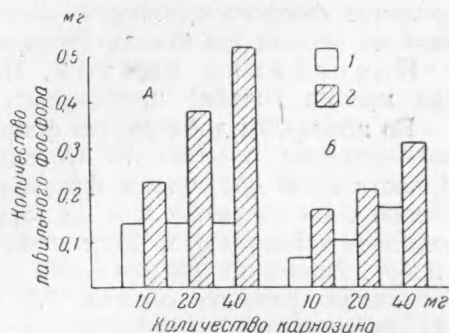


Рис. 2. Влияние различных концентраций карнозина (10, 20 и 40 мг на пробу в 3 мл) на образование лабильного фосфора. А—опыт 27 II 1951 г.; Б—5 III 1951 г. 1—лабильный фосфор без добавки креатина, 2—лабильный фосфор при добавлении 10 мг креатина на пробу

Наибольшее накопление лабильного фосфора в опытах с креатином\* наблюдалось в пробах, куда был добавлен и карнозин\*\*. При этом количество лабильного фосфора увеличивалось по мере продолжительности опыта, а также в зависимости от количества добавленного карнозина. Добавление одного креатина или одного карнозина приводило лишь к небольшому увеличению лабильного фосфора (см. рис. 1 и 2). Для выяснения вопроса о составе лабильного фосфорного соединения,

\* Аналогичные данные приведены в работе В. И. Иванова (4).

\*\* Фосфокреатин и другие неустойчивые в кислоте фосфорные соединения, ведущие себя аналогично фосфокреатину.

образующегося при инкубации ткани в присутствии креатина и карнозина. была предпринята попытка выделения этого соединения в виде бариевого нерастворимого в спирте соединения. Анализ бариевых осадков показал, что до 80—85% лабильного фосфора, определяемого в трихлоруксусном фильтрате, переходит в нерастворимый в спирте бариевый осадок. При этом только часть лабильного фосфора, перешедшего в бариевый осадок, открывается как фосфокреатин (см. табл. 2).

Таблица 2

Анализ лабильного фосфорного соединения

Дата	Колич. лабильн. фосфора в трихлоруксусн. фильтрате в мг	Бариевый нерастворимый в спирте осадок			
		Фосфор в мг	% от лабильн. фосфора трихлоруксусн. фильтрата	Креатин * в мг Р	% от фосфора бариевого осадка
1951 г.					
19 III . . . . .	0,34	0,29	85	0,15	52
24 III . . . . .	0,38	0,30	79	0,20	67
7 IV . . . . .	0,63	0,53	84	0,42	79
11 V . . . . .	0,57	0,44	77	0,29	66
29 VII . . . . .	0,27	0,22	82	0,15	68

\* Количество креатина выражено в мг фосфора фосфокреатина.

На возможность стимулирующего влияния карнозина на перенос фосфора с АТФ на креатин уже указывалось (4). Для проверки этой возможности в наших условиях был поставлен опыт с тканью в анаэробных условиях с добавлением бромацетата, что должно полностью исключать образование АТФ как путем окислительного, так и гликолитического фосфорилирования. Оказалось, что добавление АТФ к пробам, содержащим карнозин и креатин, приводит к большему образованию лабильного фосфора по сравнению с пробами, содержащими один карнозин или один креатин (см. табл. 3).

Для выяснения вопроса о том, в какой мере образование в присутствии карнозина лабильного фосфорного соединения обусловлено гликолитической оксидоредукцией и в какой аэробными окислительными процессами, был поставлен опыт, где гликолитическая оксидоредукция выключалась добавлением бромацетата, а выключение окислительного фосфорилирования достигалось заполнением газового пространства опытных проб водородом. Одновременно ставились пробы в атмосфере кислорода без добавления бромацетата. Как показало исследование, количество лабильного фосфора при инкубации ткани в присутствии карнозина в атмосфере кислорода без бромацетата было значительно больше, чем сумма лабильного фосфора, найденного при инкубации ткани в атмосфере водорода и при инкубации ткани в атмосфере кислорода в присутствии бромацетата. В пробах без карнозина сумма лабильного фосфора, образовавшегося при инкубации ткани в анаэробных условиях и при инкубации в атмосфере кислорода в присутствии бромацетата, была равна количеству лабильного фосфора, образующегося в атмосфере кислорода без бромацетата (см. табл. 4).

Трактовка полученных результатов может быть различной. В атмосфере кислорода в ткани присутствует большее количество акцепторов водорода, чем в анаэробных условиях; благодаря этому в аэробных условиях недостаток акцепторов водорода не будет ограничивать гликолитическую оксидоредукцию, а следовательно, и связанное с ней образование АТФ. В присутствии карнозина, ускоряющего реакцию гликолитической оксидоредукции, большее образование АТФ окажется особенно

выраженным. С другой стороны, добавление бромацетата может частично уменьшать окислительное фосфорилирование и связанное с ним образование АТФ. И наконец, не исключена возможность непосредственного влияния бромацетата на реакцию переноса фосфата с АТФ на

Таблица 3

Влияние карнозина на перенос фосфора с АТФ на креатин (в мг Р)

Состав проб	Лабильный фосфор		Легко гидролизуемый фосфор	
	без АТФ	с АТФ	без АТФ	с АТФ
Проба до инкубации . . . . .	0	следы *	0	0,59
Проба после инкубации: **				
с креатином . . . . .	0	0,09	0	0,08
с карнозином . . . . .	0	0,06	0	0,09
с креатином и карнозином . . . . .	0	0,27	0	0,06

\* В пробе до инкубации с АТФ при определении лабильного фосфора в магниезиальном фильтрате, возможно незначительное расщепление АТФ в кислом растворе.

\*\* Время инкубации 20 мин.

креатин. Вопрос о том, является ли какая-нибудь из указанных возможностей решающей или играет лишь наиболее существенную роль, требует экспериментальной проверки.

На основании проведенной работы можно сделать следующее заключение о значении карнозина в обмене мышц:

1. Карнозин, стимулируя реакцию оксидоредукции, принимает участие в образовании богатых энергией фосфорных соединений (АТФ).

2. Карнозин сберегает АТФ от гидролитического распада, ускоряя перенос фосфатных групп с АТФ на креатин.

3. Количество образовавшегося в присутствии карнозина и креатина лабильного фосфорного соединения прямо пропорционально времени инкубации и количеству добавленного карнозина.

Химические реакции, лежащие в основе влияния карнозина на реакцию оксидоредукции и на реакцию переноса фосфора с АТФ на креатин, до сих пор еще остаются неясными.

Таблица 4

Влияние карнозина на гликолитическую оксидоредукцию и окислительное фосфорилирование

Состав опытных проб	Количество лабильного фосфора (в мг Р)			
	образующегося за счет гликолитич. оксидоредукции а	образующегося за счет окислит. фосфорилирования в присутствии бромацетата б	Сумма а + б	образующегося при инкубации ткани в атмосфере кислорода
Ткань + ФДФ + креатин	0,093	0,115	0,208	0,217
Ткань + ФДФ + креатин + карнозин . . . . .	0,305	0,265	0,570	1,195

За ценные указания и постоянное внимание при проведении данной работы приносим проф. С. Е. Северину глубокую благодарность.

Поступило  
29 VIII 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> С. Е. Северин и Н. П. Мешкова, ДАН, 74, 549 (1950). <sup>2</sup> Н. П. Мешкова и Н. В. Алексахина, Усп. биол. хим., 2 (1951). <sup>3</sup> S. Oscho, Journ. Biol. Chem., 151, 493 (1943). <sup>4</sup> С. Е. Северин, В. И. Иванов, Н. П. Карузина и Р. Я. Юделович, Биохимия, 13, 158 (1948).