

А. Н. ПАРШИН и Т. А. ГОРЮХИНА

СИНТЕЗ КАРНОЗИНА И АНСЕРИНА В ПЕЧЕНИ СОБАК

(Представлено академиком А. И. Опариным 3 XI 1952)

В. С. Гулевич допускал две возможности образования карнозина в животном организме: 1) путем распада более сложных осколков белковой молекулы, например декарбоксилированием аспарагилгистидина, или 2) путем синтеза из β -аланина и *l*-гистидина (1). Как мы теперь знаем, правильным оказалось второе допущение. Первыми экспериментальными данными, подтвердившими синтетическое образование карнозина из продуктов пищеварительного распада белковой молекулы, следует рассматривать опыты, в которых сильное уменьшение карнозина в мышечной ткани, наступающее в результате голодания, полностью устранялось при даче опытным животным обильной белковой пищи (2, 3). Если принять во внимание структуру карнозина, являющегося дипептидом β -аланилгистидина, то эти наблюдения указывали также, что главным компонентом, определяющим синтез данного соединения, которое всасывается во время белкового переваривания из тонкого кишечника в кровяное русло, вне сомнения, служит гистидин, поскольку β -аланин не входит в состав белков. Образование всех встречающихся в организме дериватов имидазольного кольца за счет пищевого гистидина доказывалось и принадлежностью гистидина к числу незаменимых аминокислот, что с большей наглядностью подтвердилось и в исследованиях с тяжелым азотом (4). Наконец, постоянное наличие в тканях свободного β -аланина, уменьшение карнозина в мышцах крыс при отсутствии в пище гистидина (5) и его увеличение в мускулатуре молодых кроликов после подкожного введения гистидина (6), в особенности же изучение образования карнозина и ансерина у кроликов с опухолью Броун-Пирса, позволившего выяснить и механизм этого процесса (7), явились прямым доказательством синтеза обоих названных дипептидов в животном организме из их составных ингредиентов.

Т а б л и ц а 1

Субстрат	N — NH ₂ мг на 1 г ткани			Карнозин и ансерин в мг%	Бромная проба
	до гидролиза	после гидролиза	разность		
Мышца:					
нормальной собаки	1,16	1,47	0,31	512	+
собаки со свищом Экка-Павлова	1,18	1,24	0,06	96	±

Оставалось, однако, не решенным, в каком месте животного организма осуществляется синтез карнозина и ансерина из β -аланина и гистидина. Обнаружение карнозина и ансерина в значительных количествах исключительно в мускулатуре, отрицательные результаты при попытках доказать их наличие в крови и внутренних органах, активное расщепление этих азотистых оснований внутриклеточными ферментами некоторых органов — послужили в свое время поводом к принятию положения о синтезе карнозина и ансерина в мышечной ткани (8). Но накопления таких новых фактов, как появление карнозина и ансерина на последней стадии онтогенеза в мускулатуре эмбрионов, когда ее морфологическое и функциональное формирование уже заканчивается (6, 9), отсутствие изменений в содержании карнозина и ансерина в мышечных опухолях по сравнению со здоровыми мышцами, при резком уменьшении в рабдомиобластомах количества креатинфосфата и аденозинтрифосфорной кислоты (9), образование которых в мышечной ткани не вызывает сомнений, почти полное исчезновение карнозина и ансерина из мышечной ткани кроликов с опухолью Броун-Пирса, сопровождающееся одновременно сильным повышением активности ферментов печени, расщепляющих гистидин (7) — все это заставило нас уже давно допустить, что оба дипептида мышц синтезируются именно в этом органе.

Таблица 2

	N — NH ₂ , мг на 1 г ткани							
	Ч а с ы							
	1	2	3	4	5	6	7	14
Экстракт печени нормальной собаки								
Na ₂ CO ₃	0,44	0,90	1,22	1,48	1,59	1,66	1,76	1,76
NaOH	0,67	1,60	2,45	2,74	2,91	2,99	3,14	3,14
собаки со свищем Экка- Павлова								
Na ₂ CO ₃	0,44	0,93	1,19	1,40	1,52	1,67	1,70	1,86
NaOH	0,56	1,17	1,71	2,22	2,30	2,78	2,77	2,95

Исследования энзиматического распада метилгистидина (10), а в особенности изучение формирования печени и время появления в ней ферментов — гистидиндеаминазы и урочаниназы в процессе онтогенетического развития различных животных и человека (неопубликованные пока работы) и сопоставление этих наблюдений с моментом обнаружения карнозина и ансерина в мускулатуре эмбрионов еще более убедили нас в правильности допущения их синтеза в печени.

В настоящей работе мы приводим первые экспериментальные данные, вполне подтвердившие это предположение.

Чтобы выяснить роль печени в образовании карнозина и ансерина в животном организме, мы поставили опыты на собаке, у которой печень выключалась из кровеносной системы наложением соустья между нижней поллой и воротной венами по способу Н. В. Экка. Как известно, операция экковского свища была усовершенствована И. П. Павловым и блестяще им использована в совместной работе с М. В. Ненцким и их сотрудниками при решении вопроса об образовании мочевины в печени (11). В последующем экковский свищ с большим успехом применялся в ряде лабораторий для выяснения роли печени в обмене белков, образования кинуреновой кислоты и парных эфирсерных кислот, а также с целью изучения других биохимических и физиологических явлений. В настоящее время свищ Экка — Павлова очень широко используется в лаборатории Е. Н. Сперанской для решения самых различных задач физиологии.

Для своих экспериментов мы взяли собаку, хорошо перенесшую операцию Экка — Павлова и убитую нами через 50 дней после наложения венного соустья. Не подлежало сомнению, что если наша предпосылка об образовании карнозина и ансерина из β -аланина и гистидина в печени правильна, то в мышечной ткани собаки, после выключения печени путем наложения экковского свища, неминуемо должно было наблюдаться снижение содержания карнозина и ансерина. Ожидать полного отсутствия обоих этих азотистых оснований в мускулатуре опытной собаки имелось мало оснований, так как при операции Экка — Павлова не происходит полного выключения из кровеносной системы печени и ее функция благодаря этому сохраняется.

В целях установления большей ясности между функцией печени и количеством карнозина и ансерина в мышечной ткани, в наших опытах, наряду с их определением в мышцах, исследовалась также активность печеночных ферментов — гистидиндезаминазы и уроканиназы. Контролем служили аналогичные наблюдения на здоровой собаке. Карнозин и ансерин определялись энзиматическим методом ⁽¹²⁾ в мышцах задних конечностей собак. Активность гистидиндезаминазы учитывалась в различные сроки по количеству аммиака, образующегося в результате ее действия на гистидин, при вытеснении содой, уроканиназы — таким же путем по разнице между количеством аммиака, вытесняемого едким натром и содой. В отдельный опыт бралось обычно 20 мг гистидина, 7,5 мл буферного экстракта печени, 8,5 мл *M/10* фосфатного буфера pH 8; в качестве антисептика служил хлороформ. После стояния в термостате белки осаждались трихлоруксусной кислотой. Проведение этих опытов более подробно описано в одной из предыдущих работ ⁽¹³⁾.

Из табл. 1 видно, что наши ожидания об уменьшении карнозина и ансерина в мускулатуре собаки после наложения ей свища Экка — Павлова полностью оправдались. Этот факт трудно рассматривать иначе, как доказательство синтеза карнозина и ансерина в печени. В то же время отсутствие заметных изменений в активности ферментов гистидиндезаминазы и уроканиназы (см. табл. 2) указывает на хорошую сохраняемость функциональной работы печени даже спустя долгое время после операции венного соустья. Наблюдается лишь слабое понижение активности уроканиназы по сравнению с действием этого же фермента печени здоровой собаки. Следовательно, сильное уменьшение содержания карнозина и ансерина в мышцах собаки, наступившее после наложения ей свища Экка — Павлова, не является результатом нарушения работы печени, в частности синтеза пептидной связи, а обуславливается недостатком гистидина, метилгистидина, а возможно, и β -аланина, вследствие их непоступления из пищеварительного тракта по воротной вене в печень. Неполное выключение печени из общего кровотока при этих условиях, главным образом за счет печеночной артерии, сохраняет ее функцию и объясняет синтез карнозина и ансерина в этом органе, хотя и в очень малых размерах, как обнаружилось при исследовании мышц.

Судя по опытам на кроликах с опухолью Броун — Пирса ⁽⁷⁾, по данным энзиматического расщепления метилгистидина ⁽¹⁰⁾ и по результатам подкожного введения молодым кроликам гистидина ⁽⁶⁾ и продуктов кислотного гидролиза ансерина ⁽¹⁴⁾, при образовании карнозина конденсируется β -аланин с гистидином; в случае же синтеза ансерина гистидин предварительно метилируется в печени же до метилгистидина, а последний потом соединяется пептидной связью с β -аланином. Поэтому и замещение в мускулатуре карнозина ансерином в процессе онтогенеза некоторых животных ⁽⁶⁾ мы объясняем не только функциональным состоянием мышечной системы, а скорее связываем это явление со временем образования соответствующих ферментов в печени. Возможно, что в организме между обоими этими процессами существует определен-

ная зависимость. Когда сообщенные здесь опыты были уже в ходу, появились новые данные об обнаружении карнозина в крови и внутренних органах собак и кроликов ⁽¹⁵⁾, что вполне согласуется с нашими результатами о синтезе этих дипептидов в печени. Попутно считаем необходимым указать и на то, что одним из авторов (А. Н. Паршин) еще около 12 лет назад были получены отрицательные данные при постановке самых разнообразных опытов, направленных на установление синтеза карнозина из β -аланина и гистидина в мышечной ткани. Мы надеемся представить в самом ближайшем будущем новые результаты не только о синтезе карнозина и ансерина, но и в отношении других азотистых оснований мышц.

В заключение считаем своим долгом принести глубокую благодарность Е. Н. Сперанской за предоставление нам собаки со свищем Экка — Павлова.

Институт онкологии
Академии медицинских наук СССР

Поступило
19 VIII 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. С. Гулевич, *Z. physiol. Chem.*, **73**, 434 (1911). ² G. Hunter, *Biochem. J.*, **19**, 34 (1925). ³ Б. М. Колдаев, *Укр. биох. журн.*, **10**, 617 (1937). ⁴ R. Schoenheimer, D. Rittenberg, A. S. Keston, *J. Biol. Chem.*, **127**, 385 (1939). ⁵ А. Т. Fuller, A. Neuberger, T. A. Webster, *Biochem. J.*, **41**, 11 (1947). ⁶ Н. А. Юдаев, *Усп. совр. биол.*, **30**, 176 (1950). ⁷ А. Н. Паршин, Т. А. Горюхина, *ДАН*, **77**, 665 (1951). ⁸ А. Н. Паршин, *Усп. хим.*, **10**, 688 (1944). ⁹ А. Н. Паршин, Т. А. Горюхина, *ДАН*, **73**, 531 (1950). ¹⁰ А. Н. Паршин, Т. А. Горюхина, *ДАН*, **84**, 101 (1952). ¹¹ М. Ган, В. Н. Массен и др., *Арх. биол. наук*, **1**, 400 (1892). ¹² А. Н. Паршин, *Биохимия*, **4**, 555 (1939). ¹³ Т. А. Горюхина, *ДАН*, **88**, № 2 (1952). ¹⁴ Н. А. Юдаев, *ДАН*, **82**, 115 (1952). ¹⁵ Н. А. Юдаев, *ДАН*, **82**, 447 (1952).