

Т. Т. БЕРЕЗОВ

**ВЛИЯНИЕ В<sub>6</sub>-АВИТАМИНОЗА НА ОБМЕН L-ГЛЮТАМИНОВОЙ И L-АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТ, ГЛИЦИНА И УКСУСНОКИСЛОГО АММОНИЯ В ОРГАНИЗМЕ КРЫСЫ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 17 IV 1953)

У В<sub>6</sub>-авитаминозных крыс нарушено образование мочевины из L-фенилаланина (ФА) и L-триптофана (ТФ) и синтез этих L-аминокислот из  $\alpha$ -кетокислот; образование же мочевины из соответствующих D-аминокислот протекает беспрепятственно (1, 2). Очевидно, процессы синтеза L-ФА и L-ТФ и превращения их NH<sub>2</sub>-группы в мочевину протекают при участии пиридоксальных ферментов,—повидимому, ферментов переаминирования, тогда как аммиак, освобождаемый из D-изомеров оксидазой D-аминокислот, используется для синтеза мочевины без участия аминотрансфераз.

С этими выводами согласуются результаты описанных ниже опытов, показавшие, что у В<sub>6</sub>-авитаминозных крыс азот L-аспарагиновой кислоты (АС) и аммиака свободно переходит в мочевину, тогда как синтез мочевины из L-глутаминовой кислоты (ГЛ) подвергается глубокому нарушению. Образование мочевины из глицина не нарушается при авитаминозе В<sub>6</sub>; отсюда можно заключить, что реакции переаминирования, вероятно, не играют существенной роли в диссимиляции азота глицина.

**Экспериментальная часть**

Постановка опытов и аналитические методы описаны ранее (1, 2). Одна серия В<sub>6</sub>-авитаминозных и контрольных крыс получала нагрузки уксуснокислым аммонием (5,2 и 8,5 мМ) и глицином (7,5 мМ); другой серии крыс давали попеременно L-АС и L-ГЛ в дозах 5 и 7,5 мМ. Аминокислоты вводились с пищей, а раствор NH<sub>4</sub>-ацетата через желудочный зонд (в 2 или 3 приема). В суточной порции мочи, кроме фракций азота, определяли содержание глицина по методу Александра (3). Результаты опытов (в виде средних величин) приведены в табл. 1.

В моче В<sub>6</sub>-авитаминозных крыс (без нагрузки) наблюдалось отмеченное ранее (1, 2) снижение N мочевины и соответствующее нарастание «не определяемого» N при отсутствии существенных отклонений в экскреции N аммиака, аминокислот и пептидов. Падение N мочевины тем резче, чем сильнее развит авитаминоз у крысы. После нагрузки NH<sub>4</sub>-ацетатом (табл. 1) прирост ( $\Delta$ ) общего N в моче за 1 сутки составлял как у авитаминозных, так и у контрольных крыс в среднем от 50 до 70% азота нагрузки, остальной азот задерживался в организме. Выделенный азот аммонийной соли у обеих групп животных переходил практически количественно в мочевину ( $\Delta$ N мочевины составляет 90—130% от  $\Delta$  общ. N). Относительное содержание N мочевины повышалось у контрольных крыс с 79 до 85—86% и у опытных с 57 до 65—67%. При очень высокой дозе NH<sub>4</sub>-ацетата (8,5 мМ) авитаминозные крысы справ-

Таблица 1

Продукты азотистого обмена в суточной моче крыс при нагрузке уксуснокислым аммонием и глицином (средние величины)

Нагрузки	Число крыс	Общ. число опытов	Колич. N в мг (первая строка) и распределение N в % к общ. N (вторая строка)						Выделение неизмененного глицина в мМ
			общ. N	N мочевины	N NH <sub>2</sub>	N NH <sub>3</sub>	N пептид.	не определяем. N	
<b>I. Контрольные крысы</b>									
Без нагрузки	4	8	278	221	25,3	3,0	5,4	23,7	—
			100	79,3	9,1	1,0	1,9	8,7	
0,40 г CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> (5,2 мМ = 72 мг N)	2	2	329	283	17,2	2,7	3,3	22,9	
			100	86,1	5,2	0,8	1,0	7,0	
0,65 г CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> (8,5 мМ = 119 мг N)	4	4	331	282	20,5	2,8	5,0	21,2	—
			100	85,2	6,2	0,8	1,5	6,5	—
Без нагрузки	2	4	207	168	13,5	2,9	5,4	17,0	9,2
			100	81,3	6,5	1,4	2,6	8,2	
0,56 г глицина (7,5 мМ = 105 мг N)	2	4	265	224	16,3	3,2	6,4	15,7	12,0
			100	84,3	6,1	1,2	2,4	6,0	
Без нагрузки	4	12	240	195	19,8	3,2	5,9	16,2	
			100	81,2	8,2	1,3	2,4	6,9	
0,73 г L-ГЛ (5 мМ=70 мг N)	2	2	292	248	17,5	2,5	4,6	20,0	
			100	85,2	5,9	0,8	1,5	6,7	
1,10 г L-ГЛ (7,5 мМ=105 мг N)	3	3	294	247	20,0	5,0	7,6	14,0	
			100	84,1	6,7	1,6	2,5	5,1	
0,665 г L-АС (5 мМ=70 мг N)	2	2	320	729	20,2	2,9	6,1	11,5	
			100	87,5	6,3	0,9	1,9	3,4	
Без нагрузки	2	4	178,4	143,6	13,5	5,5	4,9	10,9	
			100	80,6	7,5	3,1	2,7	6,1	
1,00 г L-АС (7,5 мМ=105 мг N)	2	2	260	223,1	17,8	2,8	7,2	9,1	
			100	85,7	6,9	1,1	2,8	3,5	
<b>II. B<sub>6</sub>-авитаминозные крысы</b>									
Без нагрузки	4	9	241	138	22,1	4,5	8,1	68,3	—
			100	57,2	9,2	1,8	3,4	28,4	
0,40 г CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> (5,2 мМ = 72 мг N)	2	2	275	184,5	27,0	3,7	5,2	55,3	
			100	67,1	10,0	1,3	1,8	19,8	
0,65 г CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> (8,5 мМ = 118 мг N)	4	4	326	212	40,1	4,1	6,0	64,3	—
			100	64,8	12,2	1,2	1,8	19,0	—
Без нагрузки	2	4	161	104	16,5	4,4	6,8	30,0	8,5
			100	64,6	10,3	2,7	4,2	18,2	
0,56 г глицина (7,5 мМ = 105 мг N)	2	3	215	157	16,3	9,4	5,3	26,7	176,3
			100	73,1	4,3	4,3	2,4	12,7	
Без нагрузки	5	14	233	144,5	22,6	4,4	6,6	54,9	
			100	62,0	9,7	1,9	2,8	23,6	
0,73 г L-ГЛ (5 мМ=70 мг N)	2	2	281	147,5	23,7	5,6	11,2	93,2	
			100	52,4	8,1	2,0	4,0	33,5	
1,10 г L-ГЛ (7,5 мМ=105 мг N)	3	3	284	145,1	30,0	7,9	10,9	90,0	
			100	51,0	10,5	2,8	3,4	32,3	
0,665 г L-АС (5 мМ=70 мг N)	2	2	302	206	20,5	5,6	10,1	60,3	
			100	68,1	6,8	1,8	3,3	20,0	
Без нагрузки	2	4	142,4	92,3	15,1	3,7	5,6	25,6	
			100	65	10,6	2,6	4	17,8	
1,00 г L-АС (7,5 мМ=105 мг N)	2	2	245,5	161,4	15,7	5,0	6,8	26,6	
			100	75	7,3	2,2	3	12,5	

лялись с аммонийной нагрузкой несколько хуже и выделяли небольшой излишек аммиака  $\Delta N \text{ NH}_3 = 18$  мг, или 15,3% от введенного.

После введения 7,5 мМ глицина также наблюдалась частичная задержка азота в равной мере у нормальных и  $V_6$ -авитаминозных крыс (табл. 1); те и другие выделяли за 1 сутки лишь 51—55% N нагрузки, причем  $\Delta N$  мочевины равнялся  $\Delta$  общ. N. Практически полному превращению выделенного азота нагрузки в мочевину соответствовало повышение процента N мочевины у контрольных крыс с 81,3 до 84,3% и у авитаминозных с 64,6 до 73,1%. Некоторое нарушение превращений глицина у  $V_6$ -авитаминозных крыс проявлялось в том, что они выделяли около 2,2% глицина (168 мМ) нагрузки в неизменном виде; этому соответствовало некоторое повышение абсолютного и относительного содержания N аминокислот в моче.

Весьма выразительны различия между превращениями  $L$ -АС и  $L$ -ГЛ у  $V_6$ -авитаминозных крыс\*. В первые сутки после нагрузки имела место задержка азота (ср. (1, 2)). После введения  $L$ -ГЛ как в норме, так и при  $V_6$ -авитаминозе  $\Delta$  общ. N мочи составлял 70% от азота нагрузки при дозе 5 мМ и около 50% при дозе 7,5 мМ. При нагрузке  $L$ -АС (5 мМ) обе группы крыс выделяли 100% N, но при повышении дозы АС до 7,5 мМ  $\Delta$  общ. N мочи упал до 78% у контрольных и до 69% N нагрузки у авитаминозных крыс. После введения  $L$ -АС  $\Delta N$  мочевины был практически равен  $\Delta$  общ. N мочи, иначе говоря, выделяемый N  $L$ -АС количественно превращался в мочевину как в норме, так и при  $V_6$ -авитаминозе. Поэтому процент N мочевины в моче повышался, в особенности у авитаминозных крыс (с 62 до 68—75%).

У нормальных крыс выделяемый с мочой N  $L$ -ГЛ точно так же весь переходил в мочевину ( $\Delta N$  мочевины равно 100%  $\Delta$  общ. N). Что касается  $V_6$ -авитаминозных крыс, то у них после нагрузки  $L$ -ГЛ выделявшийся излишек азота ( $\Delta$  общ. N принятый за 100%) распределялся следующим образом:  $\Delta N$  «не определяемой» фракции от 70 до 80% (!),  $\Delta N \text{ NH}_3$  до 14%  $\Delta N \text{ NH}_2$  от 12 до 16% (преимущественно в пептидной фракции) и  $\Delta N$  мочевины около 0 (не свыше 6—8%). Этому соответствует резкое снижение процента азота мочевины после нагрузки  $L$ -ГЛ (с 62 до 52—51%), значительное дальнейшее нарастание повышенного при  $V_6$ -авитаминозе «не определяемого» N (с 23,6 до 33—32%) и небольшое повышение процента N  $\text{NH}_3$  и N пептидов. Иными словами, при  $V_6$ -авитаминозе превращение  $L$ -ГЛ в мочевину прекращается практически полностью и азот  $L$ -ГЛ выделяется преимущественно в виде соединений, принадлежащих к «не определяемой» фракции; небольшая часть его выводится в виде аммиака, и, возможно, в форме  $L$ -пирролидон- $\alpha$ -карбоновой кислоты (прирост «пептидного» N).

### Обсуждение результатов

По современным представлениям (4-6), ближайшими источниками двух атомов N при биосинтезе мочевины в печени или, что то же, амидиновой группы аргинина, из которой образуется мочевина, служат 1 молекула  $\text{NH}_3$  (при переходе орнитина в цитруллин)\*\* и 1 молекула  $L$ -АС (при превращении цитруллина в аргинин). Превращению азота других аминокислот, в том числе  $L$ -ГЛ (5), в мочевину должно предшествовать освобождение его в виде  $\text{NH}_3$  (дезаминирование), либо переход в состав  $L$ -АС путем переаминирования или иных превращений.

Из вышеприведенных экспериментальных результатов мы можем

\* Исследование обмена  $D$ -АС и  $D$ -ГЛ при  $V_6$ -авитаминозе не представляло интереса, так как они и в нормальном организме почти не используются и выделяются с мочой:  $D$ -АС в неизменном виде, а  $D$ -ГЛ преимущественно в форме  $D$ -пирролидон-карбоновой кислоты (4).

\*\*  $\alpha$ -карбамил-глутаминовая кислота, необходимая для этого превращения, играет в нем только каталитическую роль; ее урендная группа не переносится на цитруллин (6).

сделать следующие выводы. Азот *L*-АС и аммиака при  $V_6$ -авитаминозе беспрепятственно переходит в мочевины. Следовательно, снижение мочевинообразования при этом авитаминозе не обусловлено какими-либо нарушениями в цепи реакций орнитин  $\xrightarrow{+NH_3+CO_2}$  цитруллин  $\xrightarrow{+AC}$  аргинин  $\xrightarrow{H_2O}$  орнитин +  $CO(NH_2)_2$ , составляющих орнитиновый цикл мочевинообразования. Поэтому азот тех аминокислот, которые дезаминируются без участия  $V_6$ -энзимов, например *D*-аминокислот, окисляемых оксидазой *D*-аминокислот и некоторых *L*-аминокислот, легко превращается через аммиак в мочевины при недостаточности  $V_6$ .

Прекращение образования мочевины из *L*-ГЛ при  $V_6$ -авитаминозе указывает на то, что ГЛ переходит в мочевины только через АС, т. е. путем реакции переаминирования. Отсюда следует, далее, что дезаминирование ГЛ присутствующей в печени и других органах активной глутамикодегидразой (с участием козимазы), т. е. реакция, которой до сих пор отводилось важное место в представлениях о непрямых путях диссимиляции *L*-аминокислот (4), не играет существенной роли в катаболизме *L*-ГЛ в организме крысы. Иначе, т. е. в случае окислительного дезаминирования ГЛ, образующийся аммиак должен был бы переходить в мочевины и при  $V_6$ -авитаминозе. Приведенное заключение согласуется с тем, что действие глутамикодегидразы при физиологических значениях рН направлено преимущественно в сторону восстановительного аминирования, т. е. синтеза ГЛ (4, 7). В условиях  $V_6$ -авитаминоза значительная часть азота ГЛ выделяется в форме неизвестных пока азотистых продуктов (ср. (1, 2)); выяснение их природы представляет весьма интересную, но сложную задачу.

При синтезе мочевины из аммиака у  $V_6$ -авитаминозных крыс стадия превращения цитрулина в аргинин, очевидно, может протекать за счет преобразованной АС или АС, образующейся непосредственно из  $NH_3$  и  $C_4$ -дикарбоновых кислот (8) без предварительного синтеза ГЛ действием глутамикодегидразы. В противном случае блокирование реакции переаминирования ГЛ  $\rightleftharpoons$  АС при недостаточности витамина  $V_6$  препятствовало бы использованию  $NH_3$  для превращения цитрулина в аргинин и, тем самым, для образования мочевины.

Поскольку превращение глицина в мочевины не нарушается при  $V_6$ -авитаминозе, реакции переаминирования, повидимому, не играют в нем существенной роли. Дальнейшие исследования должны показать, протекает ли это превращение через  $NH_3$ , образуемый из глицина глицинооксидазой (флавиновым энзимом), или иными путями, например через серин. Имеются указания на участие пиридоксала в превращении глицина в серин (9, 10); роль витамина  $V_6$  в дезаминировании (анаэробном) серина доказана (11). Следовательно, превращение глицина по этому пути при недостаточности  $V_6$  должно быть затруднено; в выделении небольших количеств неизмененного глицина при  $V_6$ -авитаминозе, возможно, проявляется нарушение именно этих энзиматических реакций.

Выражаю глубокую благодарность действительному члену Академии медицинских наук СССР проф. А. Е. Браунштейну за руководство работой.

Институт биологической и медицинской химии  
Академии медицинских наук СССР

Поступило  
4 XII 1952

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Т. Березов, ДАН, 86, 605 (1952). <sup>2</sup> Т. Березов, ДАН, 90, № 4 (1953).  
<sup>3</sup> А. Браунштейн, Г. Виленкина, ДАН, 66, 243 (1949). <sup>4</sup> А. Браунштейн, Биохимия аминокислотного обмена, М., 1949. <sup>5</sup> S. Ratner, A. Pappas, J. Biol. Chem., 179, 1183, 1199 (1949). <sup>6</sup> P. Cohen et al., ibid., 166, 239, 251 (1946); 191, 131, 189, 203 (1951). <sup>7</sup> J. A. Olson, C. B. Anfinsen, ibid., 197, 67 (1952).  
<sup>8</sup> М. Крицман, С. Мелик-Саркисян, Биохимия, 9, 379 (1944); 10, 1, 336 (1945).  
<sup>9</sup> J. Lascelles et al., Biochem J., 49, 46 (1951). <sup>10</sup> J. Lascelles, D. Woods, Nature, 166, 649 (1950). <sup>11</sup> J. Reissig, Arch. Biochem. Biophys., 36, 234 (1952).