

Т. А. ГОРЮХИНА

**ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ИМИДАЗОЛМОЛОЧНОЙ
КИСЛОТЫ В ОРГАНИЗМЕ НОРМАЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ
КРОЛИКОВ**

(Представлено академиком В. А. Энгельгардтом 7 VII 1954)

Как видно из предыдущего нашего сообщения ⁽¹⁾, имидазолмолочная кислота не распадается в кашицах печени или почек нормальных и опухолевых крыс, если судить по отсутствию ее убыли, образованию аммиака, аминокслада и поглощению кислорода. В то же время при подкожном введении имидазолмолочной кислоты нормальным и опухолевым крысам около 35% ее разрушается, и наступает увеличение в моче мочевины, аммиака и аминокслада; оставшая часть имидазолмолочной кислоты выводится с мочей в неизмененном виде. В таком же количестве наблюдалось выведение неизмененной имидазолмолочной кислоты с мочей и в опытах на собаках ^(2, 3).

Частичное расщепление имидазолмолочной кислоты в организме животных, наряду с данными о заменимости ею гистидина в пище крыс ⁽⁴⁻⁶⁾, скорее всего можно было объяснить аминированием и превращением имидазолмолочной кислоты в гистидин. В связи с этим нам казалось, что использование исследований нашей лаборатории, касающихся изучения обмена гистидина у кроликов с опухолью Броун — Пирс ^(7, 8), может дать новые и более убедительные данные об образовании гистидина из имидазолмолочной кислоты в животном организме. По нашим наблюдениям, у кроликов после прививки им опухоли Броун — Пирс наступает сильная активация ферментов печени гистидиндезаминазы и урокинаказы, ведущая к уменьшению гистидина в белках печени и его производных — карнозина и ансерина — в мышечной ткани. Уменьшение гистидина в белках печени и карнозина и ансерина в мышечной ткани легко устраняется, если кроликам с опухолью Броун — Пирс вводить подкожно гистидин. На основании этих данных мы предположили, что, в случае превращения в животном организме имидазолмолочной кислоты в гистидин, при ее подкожном введении кроликам с опухолью Броун — Пирс равным образом должно восстанавливаться нормальное содержание карнозина и ансерина в мышечной ткани. С этой точки зрения представлялись интересными и опыты на здоровых голодающих кроликах, так как голодание также вызывает снижение карнозина и ансерина в мышечной ткани. Поэтому устранение этого явления после подкожного введения имидазолмолочной кислоты голодающим кроликам также может служить ценным указанием об образовании гистидина из имидазолмолочной кислоты.

Чтобы подтвердить это свое предположение, мы вводили подкожно нормальным кроликам и кроликам с опухолью Броун — Пирс имидазолмолочную кислоту, а в мышечной ткани опытных животных определялось общее содержание карнозина и ансерина энзиматическим методом. Кроме того, дабы иметь суждение об интенсивности и характере ферментативных превращений имидазолмолочной кислоты в организме нормальных и опухолевых кроликов, мы определяли в суточной моче общий азот, мочевину уреазным способом, аминокслад медным способом,

Таблица 1

Животное	Дни развития опухоли	Введено имидазол-мол, к-ты в г	Содерж. карнозина и ансерина в мг%	Бромная проба	Примечания
Здоровый кролик	—	0	535	+	
	—	0	535	+	
Голодный кролик:					
7 дней	—	0	430	+	
10 "	—	0	300	+	
7 "	—	2,5	554	+	
10 "	—	3,0	500	+	
Кролик с опухолью Броун—Пирс	13	0	102		Метастазы в печени
	20	0	96		Метастазы в брыжейке, единичные узлы в печени
	14	4	452	+	Единичные метастазы в органах
	14	6	560	+	Множественные метастазы во всех органах
	14	6	434	+	То же
	14	7,5	590	+	" "
	15	7,5	475	+	Множественные метастазы в печени, почках и легких
	15	7,5	449	+	То же
	15	7,5	494	+	" "
	21	4,0	280	+	" "
	21	4,0	736	+	" "

аммиак по Фолину, имидазолмолочную кислоту по диазореакции, гистидин по диазореакции и ферментативным путем по количеству отщепляющегося аммиака при действии гистидиндеаминазы и уроканиназы. Подопытные кролики весом 1,8—2 кг получали общую диету, состоявшую из овса, моркови и капусты. Для собирания мочи они содержались в специальных клетках. В качестве антисептика к моче добавлялся хлороформ.

Имидазолмолочная кислота вводилась подкожно в водном растворе по 0,5—1,5 г каждому опытному кролику в течение 3—5 дней. *l*-Имидазолмолочная кислота синтезировалась нами по Френкелю⁽⁹⁾ действием азотистокислого серебра на монохлоргидрат *l*-гистидина. Опухоль Броун—Пирс прививалась в яички кролика.

Результаты опытов, представленные в табл. 1, показывают, что при подкожном введении имидазолмолочной кислоты кроликам с опухолью Броун—Пирс содержание карнозина и ансерина в мышечной ткани достигает нормы. Введение имидазолмолочной кислоты голодающим кроликам равным образом предотвращает уменьшение карнозина и ансерина в мышечной ткани, обычно наступающее у таких животных. Эти данные не оставляют сомнений в образовании гистидина из имидазолмолочной кислоты в животном организме.

Когда наша работа была уже закончена, появились исследования А. Л. Синицкой⁽¹⁰⁾ из лаборатории А. Е. Браунштейна, в которых путем хроматографии на бумаге удавалось наблюдать образование гистидина из имидазолмолочной кислоты в срезах печени и почек крыс, не сопровождающееся, однако, как и в наших прежних опытах⁽¹⁾, нарастанием аминокислоты. Повидимому, это зависит от того, что, пользуясь методом Ван-Слайка, не удается обнаружить очень малых количеств аминокислоты. Образование гистидина из имидазолмолочной кислоты в организме нормальных и опухолевых кроликов подтвердилось и при исследовании азотистых ингредиентов мочи (см. табл. 2). После введения имидазолмолочной кислоты наступает повышение в моче общего азота,

Таблица 2

Животное	Введено амид-азотомол. к-ты	Общий азот	Азот мочевины	Азот аминокислот	Аминоазот	Введено имидазолмол. к-ты	Гистидин	Урокаинов. к-та	Введено имидазолмол. к-ты в %	Вес животного в г	
	в мг										
Здоровый кролик	0	409	320	1,2	7,8	6	0	6		1970	
	0	996	690	2,9	39	26	56	0			
	1500	556	414	1,3	13	86	0	0	5,7		
	1500	1445	344	9,3	159	1099	24	0	73,2		
	1500	1360	902	18,6	212	1066	0	0	71		
	1500	1352	918	17,0	218	1050	0	0	70		
Здоровый кролик	0	160	85	1,0	6	8	18	0		1980	
	1000	1406	780	6,7	180	788	139	0	78		
	1000	868	537	17,0	108	940	0	99	93,2		
	1000	1435	901	5,1	127	770	19	0	76,2		
	0	449	350	5,3	6,7	14	11	18			
	0	1045	778	7,8	19	29	12	0			
Голодный кролик										2250	
	7 дней	0	1304	1088	7,5	6	14				
		0	820	688	25,6	9	32				
		500	1016	866	14,3	24	211		40		
		500	1030	822	9,0	50	251		50		
		500	924	709	7,7	27	255		50		
		1000	1147	893	6,2	48	353		35		
	10 дней	0	730	572	2	9	13	0	0		
		1000	3032	2889	19,6	317	1040	16,8	0		51
		1000									
1000		2301	1828	4,3	258	884	0	0	88		
Кролик с опухолью Броун—Пирс	0	728	504	0,8	8	12	5	0		1990	
	1500	806	457	2,7	207	1120	15	0	74,0		
	1500	1196	662	4,7	233	1104	73	73	73		
	1500	1450	1102	5,6	206	837	14	14	55		
	1500	1499	980	12,9	248	1182	0	48	78		
	1500	1868	1300	12,0	215	1115	15	40	73		
	0	699	485	3,7	14	11	11	20		1870	
	1500	940	750	7,5	54	840	0	0	55,2		
	1500	1118	588	6,0	236	906	56	0	59,6		
	1500	1526	916	19,7	240	1050	484	484	69		
	1500	1808	1223	4,4	260	1182	0	0	78		
	1500	2132	1323	27,8	220	973	41	41	64		
	0	434	320	3,1	9	6	7	0		2050	
	1000	709	428	5,6	104	663	7	0	65,7		
	1000	1189	689	14,0	132	720	57	0	71,4		
	1000	999	467	17,0	122	700	0	0	69,4		
	1000	1126	602	9,0	128	798	4	17	79,2		
	0	—	—	—	7,5	19	—	—	Разов. пори.		

мочевины и, в особенности, аминокислот. Такие же явления наблюдались нами ранее у крыс, содержащихся на морковной диете, после введения им имидазолмолочной кислоты ⁽¹⁾. Резкое увеличение аминокислот в моче, несомненно, обуславливается распадом гистидина, образующегося из имидазолмолочной кислоты. По нашим данным ⁽¹¹⁾, гистидин расщепляется под влиянием ферментов печени и почек до неизвестного пока аминокислотного соединения, которое, выделяясь с мочой, повышает содержание

аминоазота. Кроме того, доказано образование аминокислот из аммиака, гистидина и кетокислот (¹²). Такое объяснение увеличения аминоазота подтверждается и опытами с введением гистидина, в которых также количество аминоазота в моче сильно повышается. Обнаружить в моче наличие гистидина бромной пробой или ферментативным методом, как и предполагалось, при этих условиях не удастся. В самом деле, поскольку при подкожном введении нормальным и опухолевым кроликам имидазолмолочной кислоты 60—70% ее выводится с мочей в неизменном виде, в наших опытах при введении 0,5—1,5 г имидазолмолочной кислоты могло образоваться всего лишь 0,3—0,5 г гистидина. Эти же количества гистидина легко расщепляются в организме взрослых кроликов. Процесс синтеза гистидина из имидазолмолочной кислоты в организме нормальных и опухолевых кроликов, судя по ее количеству, выводимому с мочей в неизменном виде, и количеству азотистых продуктов мочи, протекает с одинаковой интенсивностью в обоих этих случаях. Нераспавшаяся в организме имидазолмолочная кислота выводится с мочей в течение суток.

Полученные нами результаты сделали возможным понять путь ферментативных превращений имидазолмолочной кислоты в животном организме. Главным этапом этого процесса является аминирование имидазолмолочной кислоты и превращение ее в гистидин, который потом подвергается соответствующим для этой аминокислоты реакциям синтеза и распада. В отсутствие реакции аминирования энзиматические превращения имидазолмолочной кислоты в животном организме, по всей вероятности, не происходят, так как расщепляется только та часть имидазолмолочной кислоты, которая успевает аминироваться до гистидина, но интенсивность этой реакции, даже в целом организме, весьма ограничена. Лишь при помощи хроматографического анализа удалось обнаружить образование гистидина из имидазолмолочной кислоты в срезах печени и почек (¹⁰). Правда, наблюдавшееся нами ранее сильное увеличение поглощения кислорода кашицами почек при добавлении экстрактов печени, предварительно инкубированных с имидазолмолочной кислотой (¹), тоже указывало на образование гистидина, поскольку аналогичное явление имеет место и при добавлении экстрактов печени, инкубированных с уроганиновой кислотой (¹³) или гистидином. Поглощение кислорода при этих условиях идет за счет расщепления в почках промежуточного соединения, являющегося продуктом превращения уроганиновой кислоты, который образуется в печени при распаде гистидина. Обнаружение реакции аминирования имидазолмолочной кислоты в животном организме делает возможным допустить ее образование, хотя и в очень ограниченном размере, при обмене гистидина. Весьма вероятно, что при обмене аминокислот гистидина с другими аминокислотами, а также с солями аммония (¹⁴) имидазолмолочная кислота служит акцептором аминоазота.

Считаю своим приятным долгом выразить благодарность А. Н. Паршину за ценные советы.

Институт онкологии
Академии медицинских наук СССР
Ленинград

Поступило
2 VI 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Т. А. Горюхина, Бюлл. эксп. биол. и мед., 12, 54 (1952). ² М. Konishi, J. Taniguchi, Zs. physiol. Chem., 143, 193 (1925). ³ M. Leiter, J. Biol. Chem., 64, 125 (1925).
- ⁴ J. J. Cox, W. Rose, *ibid.*, 68, 781 (1926). ⁵ B. Harrow, C. P. Sherwin, *ibid.*, 70, 683 (1926). ⁶ D. R. Celandier, C. P. Berg, *ibid.*, 202, 351 (1953).
- ⁷ А. Н. Паршин, Т. А. Горюхина, ДАН, 77, 665 (1951). ⁸ Т. А. Горюхина, ДАН, 88, 317 (1953). ⁹ S. Fränkel, Monatsh. Chem., 24, 229 (1903).
- ¹⁰ А. Л. Синицина, Биохимия, 19, 80 (1954). ¹¹ А. Н. Паршин, Т. А. Горюхина, Биохимия, 15, 499 (1950). ¹² O. Wiss, Helv. Chim. Acta, 32, 521 (1949).
- ¹³ Т. А. Горюхина, ДАН, 87, 647 (1952). ¹⁴ R. Schoenheimer, D. Rittenberg, A. Kesten, J. Biol. Chem., 127, 385 (1939).