

ЛЕ ХАК ТХАН

## СОДЕРЖАНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ И ПРИРОДНЫХ ДИПЕПТИДОВ В СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЕ ПОЗВОНОЧНЫХ

(Представлено академиком С. Е. Севериным 29 XI 1971)

Имеется довольно много работ, посвященных изучению содержания свободных аминокислот и других небелковых соединений в скелетной мускулатуре и различных тканях животного организма. Однако на ткани сердца по этому вопросу были проведены лишь единичные исследования. Как правило, полученные данные относились только к некоторым из числа азотистых небелковых составных веществ сердца (<sup>1-10</sup>). Кроме того применение различных методов экстракции ткани и последующих аналитических определений затрудняет сравнение данных, полученных разными авторами.

Целью нашей работы явилось качественное и количественное определение азотистых нингидринположительных небелковых веществ в сердечной мышце у некоторых видов позвоночных животных. Анализ проводили методом ионообменной хроматографии на автоматическом аминокислотном анализаторе. Выбранный метод анализа является наиболее совершенным, чувствительным и точным (<sup>11, 12, 14</sup>).

Методика. Работа была проведена на ткани сердца лягушек (*Rana temporaria*), голубей, кур, кроликов, свиней и крупного рогатого скота. Сердца свиней и крупного рогатого скота были доставлены с мясокомбината в охлажденном виде; в остальных случаях были использованы лабораторные животные, сердца которых обрабатывали для анализа непосредственно после забоя.

Приготовление тканевого экстракта проводили по методу Вуда (<sup>13</sup>), подвергая ткань измельчению и гомогенизированию в блендере Уорринга.

Хроматографию образцов проводили на автоматическом аминокислотном анализаторе JLC-3BC фирмы «JEOL» (Япония). Процедуру анализа осуществляли согласно методике Мура, Спэкмана и Стейна (<sup>11, 12</sup>), улучшенной Бенсоном и Паттерсоном (<sup>14</sup>), вводя некоторые модификации применительно к условиям нашей лаборатории. Разделение смеси проводили на сферической смоле марки Aminex A-4 и A-5. При анализе как нейтральных и кислых, так и основных компонентов смеси длина тефлонового капилляра в реакционном бассейне составляла 15, температура 105°, скорость бумажной ленты регистратора 7,5 см/час, объем образца 1 мл. При анализе нейтральных и кислых компонентов высота колонки составляла 70 см, рН цитратного буфера 3,25 (в начале анализа) и 4,25 (через 3 часа от начала); скорость подачи буфера 0,63 мл/мин. Температура колонки в начале анализа 30°, через 1 час 55°. Продолжительность анализа 6 час. 30 мин. При анализе основных компонентов длина колонки составляла 30 см, рН цитратного буфера 4,26, скорость подачи буфера 0,83 мл/мин. Температура колонки в начале анализа 35°, через 2 часа 55°. Продолжительность анализа составляла 6 час. 20 мин.

При расчете хроматограмм концентрацию каждого компонента определяли по способу, предложенному Мондино (<sup>15</sup>), так как мы нашли хорошо выраженную линейную зависимость между концентрацией вещества и вы-

сотой пиков (в миллиметрах). Предел чувствительности при определении соединений, дающих цветную реакцию с нингидрином, составлял  $10^{-8}$  мол/мл.

Результаты. Данные анализа представлены в табл. 1 и 2. Как видно из табл. 1, в сердечной мышце всех исследованных животных за исключением свиней присутствует карнозин. Содержание его различно и колеблется у различных видов животных в пределах от 0,51 до 10,33 мг-% на

Таблица 1

Содержание основных компонентов в экстракте сердечной мышцы  
(мг на 100 г влажной ткани)

Компоненты	Лягушки	Голуби	Куры	Кролики	Свины	Крупный рогатый скот
δ (+) Алло-ОН-лизин	0	0	0	0	1,46	1,39
γ-Аминомасляная кислота	0,18	0	0	0	0,34	0,31
Орнитин	0,23	0	0	0,20	0,40	0,40
Аммиак + этаноламин	+	+	+	+	+	+
Лизин	0,21	2,92	1,31	0,90	0,22	0,31
1-Метилгистидин	0	Следы	0	0	0	0
Гистидин	4,36	1,55	1,92	2,36	2,80	2,46
-Метилгистидин	0	0	0	0	1,01	Сл.
Зриптофан	0	0	0	0	0	0
Тизерин	0	0	0	1,75	0	0
Карнозин	10,33	1,13	0,51	3,80	0	3,40
Аргинин	0	2,26	2,55	0,93	2,08	1,50

влажный вес ткани. Анзерин найден только в сердце кролика в количестве, в 2 раза меньшем, чем карнозин. В экстракте из сердца свиней, в котором дипептиды отсутствуют, найдено наибольшее среди теплокровных животных количество гистидина (2,80 мг-%), а также 3-метилгистидин (1,01 мг-%). Сердце лягушки отличается от остальных наибольшим содержанием карнозина (10,33 мг-%) и гистидина (4,36 мг-%), а также довольно высоким содержанием β-аланина (2,50 мг-%). Это соединение не было обнаружено в экстрактах ткани сердца других исследованных животных. Аргинин в сердце лягушки отсутствует, тогда как в сердечной мышце других исследованных животных этот компонент присутствует в достаточно большом количестве. В сердце курицы содержится мало карнозина (0,51 мг-%), но по количеству аргинина (2,55 мг-%) оно превосходит остальные. Интересно отметить, что γ-аминомасляная кислота (ГАМК) также представлена в экстракте сердечной ткани некоторых видов животных: у свиней (0,34 мг-%), у крупного рогатого скота (0,31 мг-%) и у лягушки (0,18 мг-%). Пролин не был обнаружен в экстрактах сердца всех исследованных видов животных, хотя, по нашим данным, он присутствует в экстракте скелетной мускулатуры кролика. Обращает на себя внимание довольно большая суммарная концентрация таурина и мочевины, особенно в экстрактах сердечной мышцы кур, голубей и свиней (табл. 2).

Следует отметить, что у птиц наблюдается самое высокое содержание глутаминовой и аспарагиновой кислот. У голубей суммарное содержание глут + асп составляет 45,36 мг-%, у кур 84,41 мг-%. На хроматограмме нейтральных и кислых соединений экстрактов сердца лягушки на месте непосредственно перед пиком таурина и мочевины находится большой пик отчетливой формы, принадлежащий неизвестному компоненту, возможно, фосфолипидной природы.

Полученная картина распределения азотистых экстрактивных веществ в сердечной ткани исследованных видов позвоночных животных дополняет существующие в этой области представления. Содержание дипептидов в сердечной мышце незначительно по сравнению с их содержанием в скелетной мускулатуре. Суммарное содержание дипептидов в сердечной мышце

не превышает 5—10 мг-%. Надо отметить также отсутствие в ряде случаев параллелизма между содержанием дипептидов в скелетной мускулатуре животных (литературные данные) и в мышце сердца (наши данные). Так, по литературным данным в скелетных мышцах кроликов, голубей и кур содержание анзерина превышает содержание карнозина (цит. по <sup>(10)</sup> и <sup>(16)</sup>), тогда как в мышце сердца анзерин отсутствует (голуби, куры) или его содержание значительно меньше, чем содержание карнозина (кролик).

Таблица 2

Содержание нейтральных и кислых компонентов в экстракте сердечной мышцы (мг на 100 г влажной ткани)

Компоненты	Лягушки	Голуби	Куры	Кролики	Свиньи	Крупный рогатый скот
Цистеиновая кислота + фосфосерин	Следы	Следы	Следы	Следы]	Следы	Следы
Фосфотанолами	0	»	»	0	0	0
Таурин + мочеви́на	100,0	187,0	216,0	89,24	167,50	65,70
Аспарагиновая кислота	3,28	8,36	24,87	1,33	2,0	0,57
Треонин	1,26	1,92	2,41	0,18	1,43	0,66
Серин + глутамин + аспарагин	28,10	151,70	55,54	30,75	79,20	57,50
Саркозин	0	0	0	0	0	0
Глутаминовая кислота	17,10	37,0	59,54	11,38	26,20	15,80
Пролин	0	0	0	0	0	0
Цитруллин	0	0	0	Следы	1,26	0,75
Глицин	0,61	3,38	2,53	1,36	4,95	2,08
Аланин	1,66	6,78	3,54	10,80	25,10	19,40
Цистин	0	0	0	0	0,48	Следы
Валин	0,50	0,91	1,34	0,53	1,40	1,00
Метионин	0,61	0,40	0,90	0,20	0,96	0,74
Изолейцин	1,06	0,47	2,65	0,24	2,36	1,27
Лейцин	1,98	0,79	3,54	0,40	3,92	2,42
Тирозин	0,64	0	3,06	0,55	2,50	1,56
Фенилаланин	0,37	0	1,56	0,25	2,28	0,71
β-Аланин	2,50	0	0	0	0	0

С другой стороны, у лягушки, крупного рогатого скота и в скелетной мускулатуре, и в мышце сердца содержится только карнозин, а анзерин отсутствует. Содержание имидазольных производных (гистидина, метилгистидина, карнозина и анзерина) в мышечной ткани сердца невелико и заметно отличается от содержания этих соединений в скелетных мышцах. В связи с этим функциональная роль имидазольных производных в скелетной мускулатуре позвоночных животных, по-видимому, может считаться специфической, так как лишь в этой ткани имидазольные производные или β-аланин (у некоторых рыб, цит. по <sup>(16)</sup>) содержатся постоянно и в количествах, не сопоставимо больших, чем в других органах и тканях, в том числе и в мышечной ткани сердца. По содержанию нингидринположительных азотистых экстрактивных соединений мышечная ткань сердца оказалась более близкой к мускулатуре беспозвоночных (мидий, анодонт <sup>(17)</sup>), по крайней мере, если судить по высокому содержанию таурина и амидов дикарбоновых кислот, чем к скелетным мышцам позвоночных.

Следует, однако, подчеркнуть, что данных о составе мышечной ткани беспозвоночных животных еще слишком мало, чтобы считать подобные сопоставления достаточно обоснованными.

За постоянную методическую помощь приношу сердечную благодарность А. В. Лебедеву. За предложенную тему работы и руководство при ее выполнении приношу глубокую благодарность проф. С. Е. Северину.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Н. А. Юдаев, ДАН, 68, 119 (1949). <sup>2</sup> А. Н. Паршин, Т. А. Горюхина, ДАН, 73, 531 (1950). <sup>3</sup> J. A. Zapp, D. W. Willson, J. Biol. Chem., 126, 9 (1938). <sup>4</sup> G. Schmidt, R. Cubiles, Arch., Biochem. and Biophys., 58, 227 (1955). <sup>5</sup> J. Awapara, J. Biol. Chem., 218, 572 (1956). <sup>6</sup> C. L. Davey, Nature, 179, 209 (1957). <sup>7</sup> D. Abraham, J. J. Pisano, S. Udenfriend, Biochem. et biophys. acta, 50, 570 (1961). <sup>8</sup> W. J. Reddy, D. M. Hegsted, J. Biol. Chem., 237, 705 (1962). <sup>9</sup> Y. Kuroda, S. Yamauchi, H. Fukae, J. Japan Biochem. Soc., 36, 268 (1964). <sup>10</sup> K. G. Crush, Comp. Biochem. Physiol., 31, 3 (1970). <sup>11</sup> S. Moore, D. H. Spackman, W. H. Stein, Anal. Chem., 30, 1185 (1958). <sup>12</sup> D. H. Spackman, W. H. Stein, S. Moore, Anal. Chem., 30, 1190 (1958). <sup>13</sup> J. D. Wood, Canad. J. Biochem. Physiol., 36, 1237 (1958). <sup>14</sup> J. V. Benson, J. A. Patterson, Anal. Biochem., 13, 265 (1965). <sup>15</sup> A. Mondino, J. Chromatogr., 30, 100 (1967). <sup>16</sup> С. Е. Северин, В сборн. Успехи биол., химии, 2, 1954, стр. 355. <sup>17</sup> С. О. Северин, А. А. Диканова, Биохимия, 25, 1012 (1960).