

ВЛИЯНИЕ ГОЛОДАНИЯ НА ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ АМФ, АДЕНОЗИНА И ГУАНОЗИНА В НЕКОТОРЫХ ТКАНЯХ КРЫС

Ս. Մ. ՆԵՐՏԻՏՅԱՆ, Ա. Վ. ԱՐՄԵՆՅԱՆ, Յ. Ա. ԳՄԼՅԱՆ

При шестидневном голодании происходит значительное увеличение удельной активности АМФ-, аденозин- и гуанозиндезаминаз в печени и почках белых крыс. При этом наблюдается понижение общей концентрации белка. В сердечной и скелетной мышцах в этих условиях не отмечается сдвигов в активности указанных ферментов и в содержании белка.

Ключевые слова: аденозин, гуанозин, АМФ-аденозинмонофосфат, АДФ-аденозиндифосфат, АТФ-аденозинтрифосфат.

При голодании в организме происходят биохимические сдвиги адаптивного характера, в результате чего мобилизуются внутренние энергетические резервы. При переключении организма на эндогенное питание значительные отклонения отмечаются в обмене углеводов, жиров и особенно азотистых соединений.

Распад эндогенных белков, в результате которого организм обеспечивается аминокислотами, являющимися основным пластическим материалом, используемым для синтеза белков с более высокой функциональной и метаболической активностью, лежит в основе терапевтического эффекта при лечении голоданием ряда заболеваний, связанных с нарушением обмена веществ [3]. В этой связи особое значение приобретает изучение адаптационных изменений в функции ферментных систем, обеспечивающих обмен аминокислот, образование аммиака, его нейтрализацию и выделение из организма.

Целью проведения данной серии опытов является исследование в различных тканях при голодании активности аденозин-, гуанозин- и АМФ-дезаминаз, принимающих участие в образовании аммиака из нуклеотидов.

Материал и методика. Эксперименты проводили на белых крысах массой 160—180 г. Животные голодали в специальных камерах в течение 6 дней, в результате чего теряли в массе около 50 г. Контролем служили крысы той же массы, получавшие обычную пищу. Животных декапитировали, на холоду извлекали печень, почки, сердечную и скелетные мышцы. Печень, почки и сердечную мышцу гомогенизировали в 4-кратном объеме охлажденного 0,2 М трис-НСl буфера рН 7,0, скелетные мышцы в 9-кратном объеме охлажденного К-фосфатного буфера рН 6,5, содержащего 18 мМ КСl; 5,4 мМ $\text{K}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ и 3,5 мМ K_2HPO_4 . Гомогенат центрифугировали 30 мин при 12 000 г на центрифуге К-24 для осаждения ядер и митохондрий. В качестве источника фермента использовали 0,5 мл растворимой фракции сердечной мышцы, почек и печени (2,6—9,8 мг белка).

Ввиду высокой АМФ-деаминазной активности скелетных мышц использовали значительно меньшее количество растворимой фракции этой ткани—0,2 мл, что соответствовало 0,4 мг белка.

АМФ, аденозин и гуанозин добавляли в пробы в концентрации 5 мкмоль/мл; АТФ, АДФ и неорганический фосфат—2 мкмоль/мл. Инкубацию проводили при 37° в течение 30 мин в 0,05 М трис-НСl буфере рН 7,0. Пробы, содержащие растворимую фракцию скелетных мышц, инкубировали в 0,05 М имидазол-НСl буфере рН 6,6.

Аммиак определяли микродиффузионным способом Зелигсона, видоизменением Силаковой и сотр. [8]. Белок определяли методом Лоури и сотр. [15].

Результаты и обсуждение. Активность деаминаз АМФ, аденозина и гуанозина в исследованных тканях определялась нами в растворимой фракции, где преимущественно локализованы эти ферменты [2, 16, 22, 24].

Результаты наших исследований, представленные в табл. (а), показывают, что голодание вызывает увеличение активности АМФ-деаминазы в печени, почках, скелетной и сердечной мышцах соответственно на 22,6, 15, 26 и 20,5%.

Известно, что АМФ-деаминаза является регуляторным ферментом, имеющим олигомерную структуру. Основную роль в регуляции его активности, наряду с ионами щелочных металлов, играют нуклеотиды, в отношении которых этот фермент, выделенный из разных источников, отличается определенной специфичностью. В мозговой и печеночной тканях, а также в эритроцитах аллостерическим активатором АМФ-деаминазы является АТФ [1], тогда как в скелетных мышцах деаминирование АМФ стимулируется со стороны АДФ, а АТФ ингибирует этот процесс [19].

Эффективным ингибитором АМФ-деаминазы в различных тканях является неорганический фосфат [14, 18, 21, 23].

Из табл. (а) видно, что в присутствии АТФ активность АМФ-деаминазы повышается в печени, почках, сердечной мышце как в норме, так и при голодании, у контрольных животных на 25, 26 и 100%, у голодающих крыс—16,7, 20 и 100% соответственно.

В скелетных мышцах в присутствии АДФ у контрольных животных активность АМФ-деаминазы увеличивается на 49, а при голодании на 32%. Фосфат почти одинаково ингибирует АМФ-деаминазную активность скелетных мышц как в норме, так и при голодании.

Следует отметить, что в печени и почках активирующий эффект АТФ при голоде несколько ниже по сравнению с контролем. То же наблюдается в отношении стимулирующего эффекта АДФ на АМФ-деаминазу скелетных мышц.

Это явление, по всей вероятности, связано с понижением чувствительности фермента к аллостерическому активатору. Это может быть обусловлено тем, что ферментативная активность при голоде повышается, вследствие чего фермент испытывает меньшую потребность в активаторах.

Результаты наших исследований, представленные в табл. (а), показывают, что голодание вызывает усиление процесса деаминирования

Таблица

Образование аммиака из АМФ, аденозина и гуанозина в растворимой фракции различных тканей крысы при голодании.

	Печень		Почки		Скелетные мышцы		Сердечная мышца	
	контроль	голод	контроль	голод	контроль	голод	контроль	голод
а) мкг аммиака на пробу								
Аденозин	88,7±2,8	113,2±3,8	160,0±2,5	160,3±3,1	—	—	64,9±1,3	64,7±1,3
Гуанозин	86,5±2,0	103,0±4,1	57,7±1,3	68,6±1,5	—	—	27,6±0,5	28,5±0,5
АМФ	75,8±1,6	93,0±1,7	99,0±2,2	114,0±2,3	74,4±2,7	91,0±2,6	42,0±0,2	50,0±0,4
АТФ + (АДФ*)	94,7±1,4	108,7±1,8	125,7±3,5	136,3±3,9	111,0±3,2	124,0±3,4	85,7±0,5	101,0±0,7
+ Ф _н	—	—	—	—	29,5±0,4	40,0±0,4	—	—
б) мкг аммиака на мг белка								
Аденозин	9,2±0,2	15,9±0,3	19,5±0,4	28,2±1,3	—	—	24,9±2,1	25,8±1,9
Гуанозин	8,8±0,4	14,5±0,5	7,0±0,06	10,4±0,8	—	—	10,5±0,8	11,3±0,5
АМФ	7,7±0,2	13,0±0,4	12,0±0,9	20,3±1,5	186,0±4,8	229,0±6,0	16,0±0,8	21,4±0,9
АТФ + (АДФ*)	9,6±0,3	15,2±0,3	15,3±1,0	24,3±1,2	277,6±5,3	303,0±7,5	33,0±1,3	40,4±1,3
+ Ф _н	—	—	—	—	73,7±3,0	97,4±4,0	—	—

* В качестве аллостерического активатора АМФ-дезаминазы скелетных мышц добавлен АДФ, в остальных тканях—АТФ. (Средние данные 6 опытов)

аденозина и гуанозина в печеночной ткани на 27,6 и 19% соответственно. В почках и сердечной мышце никаких сдвигов обнаружить не удалось. Однако удельная активность аденозин- и гуанозиндезаминаз заметно возрастает не только в печени, но и в почках.

Из данных, представленных в табл. (б), явствует, что удельная активность аденозин-, гуанозин- и АМФ-дезаминазы при голодании возрастает более значительно по сравнению с общей активностью фермента. Особенно наглядно это выражено в тканях печени и почек, где удельная активность аденозин- и гуанозиндезаминаз повышается соответственно на 72,7, 64, 44 и 50%. Удельная активность АМФ-дезаминазы в обоих тканях возрастает на 70%. Отмеченное в наших исследованиях повышение удельной активности ферментов, катализирующих дезаминирование АМФ, аденозина и гуанозина в печени и почках, может быть обусловлено в первую очередь снижением концентрации общего белка в печени на 27,5, а в почках на 31,7%. Характерно, что в этих условиях содержание белка в сердечной и скелетной мускулатуре не изменяется.

Усиление белкового катаболизма при голоде описано рядом исследователей. В частности, при голодании животных в течение 8 сут наблюдается снижение содержания белка в печеночной ткани крыс на 45% [5]. Белковая недостаточность описана также при длительном голодании у людей [13].

Проведенные нами исследования подтверждают литературные данные об интенсивности азотистого метаболизма при голодании. Установлено, что при этом во многих тканях (печень, почки, скелетные мышцы, мозг и кровь) наблюдается повышение активности трансаминаз ряда аминокислот, в частности аспаратаминотрансферазы [7, 17], аланинаминотрансферазы [11, 12], тирозинаминотрансферазы [6] и т. д.

По данным некоторых авторов, при голоде наступают некоторые сдвиги в содержании конечных продуктов азотистого метаболизма: усиление экскреции аммиака с мочой [4] и уменьшение выделения мочевины [10]. Авторы считают, что усиление процессов аммиакообразования является следствием способности организма адаптироваться к условиям голодания путем утилизации резервных углеводов и жиров при прекращении пищи извне. В эти процессы вовлекаются и аминокислоты, что проявляется в усилении их дезаминирования.

Известно, что АМФ-дезаминазе принадлежит особое место в образовании аммиака из аминокислот в цикле пуриннуклеотидов при участии деаминоформы АМФ—ИМФ. Не исключена возможность, что при голодании значительное повышение удельной активности АМФ-дезаминазы во всех исследуемых нами тканях связано со стимулированием этого процесса.

Следует также отметить, что в литературе имеются данные, указывающие на индуктивное повышение активности ряда аммиакпродуцирующих ферментов нуклеотидного обмена при патологии. Показано, например, что повышение при ацидозе активности аденозин- и гуанозиндезаминаз почек в 2 и 2,5 раза соответственно сопровождалось зна-

чительным понижением содержания нуклеиновых кислот, что, по мнению авторов, свидетельствовало об усилении катаболизма нуклеиновых кислот [20].

Не исключено, что повышение активности исследуемых ферментов в наших опытах также обусловлено субстратной индукцией, вызванной новообразованием АМФ и аденозина вследствие возможного распада нуклеиновых кислот.

Отсутствие сдвигов в аденозиндеаминазной активности сердечной мышцы при голодании, вероятно, связано с функциональной особенностью аденозина в этой ткани. Известно, что последний в сердечной мышце обладает выраженным сосудорасширяющим эффектом [9] и изменение его концентрации при голодании могло бы привести к нарушению регуляции коронарного кровообращения.

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что при голодании во всех исследуемых тканях наблюдается значительное увеличение удельной активности АМФ-деаминазы. Удельная активность аденозин- и гуанозиндеаминаз в тех же условиях возрастает в почечной и печеночной тканях и не изменяется в сердечной мышце, причем это повышение в условиях голода в печени и почках сопровождается понижением общей концентрации белка.

Институт биохимии АН Армянской ССР

Поступило 9.II 1981 г.

**ՔԱՂՅԻ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՄՖ-Ի, ԱԴԵՆՈՋԻՆ ԵՎ ԳՈՒԱՆՈՋԻՆԻ
ԳԵԶԱՄԻՆԱՅՄԱՆ ՎՐԱ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՈՐՈՇ ՇՅՈՒՍՎԱԾՔՆԵՐՈՒՄ**

Մ. Մ. ՆԵՐՍԻՍՅԱՆ, Ա. Վ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Է. Ա. ԳՈՒԼՅԱՆ

Մեր հետազոտությունները ցույց տվեցին, որ 6 օր տևողությամբ քաղցի ժամանակ սպիտակ առնետների լյարդում և երիկամներում տեղի է ունենում ադենոզին-, գուանոզին- և ԱՄՖ-դեզամինազաների տեսակարար ակտիվության ավելացում, որի ժամանակ ընդհանուր սպիտակուցի քանակը նվազում է:

Սրտի և կմախքային մկաններում վերը նշված ֆերմենտների ակտիվության փոփոխություն չի նկատվում: Այդ հյուսվածքներում չի փոփոխվում նաև ընդհանուր սպիտակուցի քանակը:

**DEAMINATION OF AMP, ADENOSINE AND GUANOSINE
IN SOME RAT TISSUES UNDER STARVATION**

Tz. M. NERSESSIAN, A. B. HAROUTUNIAN, E. A. GULIAN

It has been established that 6 day starvation leads to significant increase of specific activity of AMP-, adenosine- and guanosine deaminases in rat liver and kidney. At the same time the decrease of total protein concentration is observed.

No changes in the activity of mentioned enzymes and protein concentration in cardiac and skeletal muscle have been noted.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арутюнян А. В. *Вопр. биохимии мозга*, 9, 251, 1974.
2. Малышева М. К., Полякова Н. М. *Укр. биохим. ж.*, 37, 360, 1965.
3. Николаев Ю. С., Нилов Е. И. В кн.: *Голодание ради здоровья*. М., 1973.
4. Оганесян А. С., Фаталова И. Р. *Биолог. ж. Армении*, 29, 66, 1976.
5. Покровский А. А., Панченко Л. Ф., Шпаков А. А., Ивков Н. Н. *Вопросы мед. химии*, 14, 421, 1968.
6. Покровский А. А., Пятницкая Г. К. В кн.: *Проблемы лечебного голодания*, 554, 1969.
7. Полетаев К. А. *Вопросы мед. химии*, 15, 227, 1969.
8. Сулакова А. И., Труш Г. П., Являнова А. *Вопросы мед. химии*, 5, 538, 1962.
9. Berne R. M. *Amer. J. Physiol.*, 204, 317, 1963.
10. Cahill G., Herrera M., Morgan A., Steinke J., Kipnis D. *J. Clin. Invest.*, 45 (11), 1751, 1963.
11. Garber A., Kacev J., Kipnis D. *J. Biol. Chem.*, 251 (3), 826, 1976.
12. Gorin E., Tal Oz Z., Schafrir E. *Europ. J. Biochem.*, 8 (3), 370, 1969.
13. Zawlor T., Wells D. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 22, 1145, 1969.
14. Lee Y., Wang M. *J. Biol. Chem.*, 243, 2265, 1968.
15. Lowry O. H., Rosebrough N. I., Farr A. L., Randall K. J. *J. Biol. Chem.*, 193, 265, 1951.
16. Purzycka J. *Acta Biochim. Polon.*, 9, 83, 1962.
17. Reddi A. *Proc. N. D. Acad. Sci.*, 27 (2), 209, 1975.
18. Ronga-Testoni S., Ranieri M., Raggi A. and Rouga G. *Ital. J. Biochem.*, 19, 262-1970.
19. Ronga G., Raggi A. and Ronga-Testoni S. *Biochim. Biophys. Acta*, 167, 626, 1968.
20. Sanger K., Mustafa S. B. *B. Res. Commun.*, 43, 1056, 1971.
21. Sammons D., Henry H. and Chilson O. *J. Biol. Chem.*, 245, 2109, 1970.
22. Smith L. and Kyzer D. *Feder. Proc.*, 27, 3241, 1968.
23. Weil-Matherbe H. and Green R. H. *Biochem. J.*, 61, 218, 1955.
24. Zydowo M. *Nature*, 184, 1641, 1959.