СОДЕРЖАНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ И ДРУГИХ НИНГИДРИНПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

М. Ш. МУРАДЯН, А. Н. ЕДИГАРЯН, А. А. ГАЛОЯН

В составе низкомолекулярных веществ сердечной мышцы обнаружены фосфосерин, глицерофосфозаноламин, фосфозаноламин, таурин, аспарагиновая кислота, треонин, серин, саркозин, пролин, глутаминовая кислота, цитруллин, глицин, аланин, L-аминоадипиновая кислота, валин, цистин, цистатионин, метионин, аллоизолейцин, изолейцин, лейцин, глюкозамин, тирозин, фенилаланин, β -аминоизомасляная кислота, лизин, гистидин, аргинин, а также 2 неидентифицированных нингидринположительных соединений.

Ключевые слова: свободные аминокислоты, коронарорасширяющая активность.

За последние годы собран обширный материал, показывающий различия в содержании свободных аминокислот в разных тканях животных—представителей различных систематических групп. Концентрация свободных аминокислот, несомненно, связана с интенсивностью метаболизма, которая определяется конкретными условиями существования вида [1—5, 21—23]. В литературе имеются скудные сведения о распределении свободных аминокислот в сердечной мышце крупного рогатого скота и их функциональном значении [17].

В настоящем исследовании мы задались целью изучить содержание свободных аминокислот, их дериватов и нингидринположительных соединений в сердце крупного рогатого скота для выявления роли этих соединений в сердечной деятельности.

Материал и методика. Низкомолекулярные соединения и аминокислоты сердца крупного рогатого скота выделены методом Галояна (патент № 4032141).

Аминокислоты, их аналоги, а также другие нингидринположительные соединения разделяли на автоматическом анализаторе аминокислот фирмы «Бекман» (тип 120 В) по методу Спекман Д. и др. [20].

Первоначально нами была проведена калибровка стандартной аминокислотной смеси, содержащей щелочные, кислые и нейтральные аминокислоты. Для идентификации отдельных производных аминокислот и неизвестных соединений использовали свидетелей аминокислотных дериватов фирмы «Сигма». В качестве ионообменников применяли амберлиты типа 150 А и 15А фирмы «Бекман».

При проверке физической потери аминокислот в процессе ионообменного хроматографического анализа использовали внутренний стандарт норлейцин (для кислых и нейтральных аминокислот) и гомоаргинин (для основных аминокислот) [14, 19].

Для выявления кислых и нейтральных свободных аминокислот лиофилизированный порошок, содержащий низкомолекулярные соединения сердечной мышцы крупного рогатого скота, в количестве 10 мг растворяли в 2 мл 0,2 N цитратного буфера,

рН 2,2, центрифугировали и прозрачную жидкость наносили на колонку $150 \times 0,9$ см, заполненную смолой 150 А с частицами диаметром 40 ± 4 микрон. Проводилась градиентная элюция 0,2 N цитратными буферами с рН 4,25 и 3,28, скорость ее 30 мл/час. Анализ продолжался 22 ч при температуре 50° и $35-50^\circ$.

Для выявления основных свободных аминокислот и их аналогов использовали колонку размером $15 \times 0,9$ см, заполненную смолой амберлит 15 А с частицами диаметром 16 ± 4 мк. Для элюции применяли 0,35 11 цитратный буфер, рН 5,28, при 50° . Скорость элюции 30 мл/час. Анализ в этом случае продолжался 8 ч.

Результаты и обсуждение. Исследования низкомолекулярных соединений сердечной мышцы крупного рогатого скота выявили в их составе следующие аминокислоты, их производные и нингидринположительные вещества: фосфосерин, глицерофосфоэтаноламин, фосфоэтаноламин, таурин, аспарагиновая кислота, треонин, серин, саркозин, пролин, глутаминовая кислота, цитруллин, глицин, аланин, L-аминоадипиновая кислота, валин, цистин, цистатионин, метионин, аллонзолейцин, изолейцин, лейцин, глюкозамин, β -аминоизомасляная кислота, тирозин, фенилаланин, лизин, гистидин, аргинин (табл.).

Таблица

Количество свободных аминокислот, их производных и нингидринположительных соединений в сердечной мышце крупного рогатого скота

Аминокислоты и их deriva ты	мкмоль г сырого веса	Аминокислоты и их deriva ты	мкмоль г сырого веса
Фосфосерин	$0,862 \pm 0,2$	Цистин	$0,127 \pm 0,02$
Глицерофосфоэтаноламин	$0,081 \pm 0,01$	Цистатионин	$0,141 \pm 0,1$
Фосфоэтаноламин	$0,129 \pm 0,01$	Метионин	$0,145 \pm 0,02$
Таурин	$3,95 \pm 0,2$	Аллонзолейцин	$0,98 \pm 0,02$
Аспарагиновая кислота	$2,913 \pm 0,5$	Изолейцин	$0,788 \pm 0,16$
Саркозин	следы	Лейцин	$0,206 \pm 0,01$
Треонин	$0,088 \pm 0,08$	Глюкозамин	$0,152 \pm 0,112$
Серин	$0,249 \pm 0,3$	Тирозин	$0,088 \pm 0,02$
Глутаминовая кислота	$1,1 \pm 0,2$	Фенилаланин	$0,215 \pm 0,13$
Пролин	$0,38 \pm 0,1$	β -аминоизомасляная кислота	$0,306 \pm 0,3$
Цитруллин	$4,69 \pm 0,3$	Лизин	$0,396 \pm 0,14$
Глицин	$0,436 \pm 0,14$	Гистидин	$0,87 \pm 0,05$
Аланин	$1,936 \pm 0,38$	Орнитин	следы
L-аминоадипиновая кислота	$0,315 \pm 0,2$	1-метилгистидин	$0,26 \pm 0,03$
L-амино-п-бутировая кислота	$0,233 \pm 0,02$	3-метилгистидин	$0,041 \pm 0,01$
Валин	$0,219 \pm 0,01$	Аргинин	$0,01 \pm 0,001$

Как видно из таблицы, в сердечной мышце в наибольших количествах содержится цитруллин, глутаминовая кислота, таурин, аспарагиновая кислота, аланин.

В сердце крупного рогатого скота сравнительно с другими аминокислотами содержится большое количество таурина. Подобные результаты были получены и другими исследователями [7, 12, 13].

Однако в литературе весьма мало данных о функциональном значении этого вещества в сердце. По мнению некоторых исследователей, таурин обладает антиаритмическим действием у ваготомизированных собак, крыс и морских свинок [18, 21—23]. Работами Фуджимото доказано, что таурин оказывает положительное инотропное действие на сердце, противодействуя кардиотоксическому действию дигиталиса, убаина в изолированном предсердии. Он ингибирует выход внутрикле-

точного К⁻ в сердце, тем самым оказывая инотропное влияние на сердечную деятельность [10].

Учитывая то, что мозг гуморальным путем оказывает регулирующее действие на сердце, а также то, что функциональное значение изученных нами дериватов аминокислот во многом остается невыясненным, исследовалась органотропная активность некоторых из них. Обнаружено, что коронарорасширяющей активностью обладают таурин и L-аминоадипиновая кислота [3].

В сердечной мышце крупного рогатого скота накоплено большое количество цитруллина. В литературе не имеется сведений о функциональном значении последнего в сердечной мышце.

В сердечной мышце находятся также в сравнительно большом количестве глутаминовая, аспарагиновая кислоты и аланин. Исследованиями ряда лабораторий убедительно показано важное значение этих аминокислот в качестве энергетических источников, особенно в условиях функциональной активности клеток, когда расход энергии значительно возрастает [6, 10, 21].

Содержание глицерофосфоэтаноламина, саркозина, аргинина, тирозина, треонина, наоборот, весьма незначительно. Однако они могут играть важную роль в физиологических процессах сердца.

Столь большое количественное различие в содержании перечисленных, как и ряда других аминокислот, в метаболических фондах ткани сердца обусловлено, вероятно, особенно важной ролью некоторых аминокислот в метаболических процессах этого органа.

В предыдущих работах мы показали, что составом и количеством свободных аминокислот нейрогипофиз, гипоталамус, мозжечок (одного и того же животного) заметно отличаются друг от друга [1—5].

Сравнительные исследования показывают, что сердечная мышца также заметно отличается от перечисленных органов и других частей организма. Так, в сердце накоплено большое количество цитруллина (4,69 мкмоль), L-аминоадипиновой кислоты (0,315 мкмоль) и саркозина (следы), которые не были обнаружены в указанных органах (одного и того же животного).

В гипоталамусе по сравнению с сердцем и мозжечком имеется большое количество β-аминоизомасляной кислоты (7,3 мкмоль), фосфосерина (1,6 мкмоль). В мозжечке выявлены путреанин, карнозин, гидроксиллизин, которые отсутствуют в нейрогипофизе и сердечной мышце. В нейрогипофизе обнаружено большое количество таурина (25 мкмоль), оксипролина (7 мкмоль), метионина (4,75 мкмоль), в то время как в сердечной мышце, гипоталамусе и мозжечке их сравнительно меньше.

В мозжечке, нейрогипофизе и гипоталамусе имеются β-аланин, мочевины, метионин-сульфоксид, гидроксипролин, которые с помощью описанной методики нам не удалось обнаружить в сердечной мышце (1 г свежей ткани).

Концентрация некоторых аминокислот (фосфосерин, валин, лизин) в сердечной мышце крупного рогатого скота аналогична таковой в вышеуказанных органах.

Полученные нами данные дают возможность заключить, что по количеству, качеству и функциям свободных аминокислот, их производных и нингидринположительных веществ сердечная мышца отличается от других органов.

Институт экспериментальной биологии АН Армянской ССР Поступило 15.IV 1981 г.

ՄՐՏԻ ԱԶԱՏ ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԸ ԵՎ ՆՐԱՆՑ ԱՆԱԼՈՒԳՆԵՐԸ

Մ. Շ. ՄՈՒՐԱԴԻԱՆ, Ա. Ն. ԵԴԻԳԱՐԻԱՆ, Ա. Ա. ԳԱԼՈՅԱՆ

Մրտի մկանում գտնվում են զլիցերոֆոսֆոէթանոլամին, ֆոսֆոսերին, էթանոլամին, տաուրին, ասպարազինաթթու, տրեոնին, սերին, սարկոզին, պրոլին, գլուտամինաթթու, ցիտրուլին, գլիցին, ալանին, L-ամինաադիպինաթթու, վալին, ցիստին, ցիստատիոնին, մեթիոնին, ալոհզոլեյցին, իզոլեյցին, լեյցին, գլուտոզամին, թիրոզին, ֆենիլալանին, β-ամինաիզոպրազաթթու, լիզին, հիստիդին, արգինին և 6 ոչ իզենտրիֆիկացված նինհիդրին դրական միացությունները:

Մեր հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ իր քիմիական միացությունների կազմով (ամինաթթվային կազմով) սիրտը տարբերվում է ուղեղից և օրգանիզմի այլ հատվածներից: Մրտում կան մեծ քանակությամբ ցիտրուլին, L-ամինաադիպինաթթու, սարկոզին, որոնց կենսաբանական ֆունկցիաները ուսումնասիրված չեն:

FREE AMINO ACIDS AND OTHER NINGIDRIN POSITIVE COMBINATIONS CONTENT OF CATTLE HEARTH MUSCLE

M. Sh. MURADIAN, A. H. EDIGARIAN and A. A. GALOYAN

Phosphoserine, glycerophosphoethanolamine, phosphoethanolamine, taurine, aspartic acid, threonine, serine, sarcosine, proline, glutamic acid, citrulline, glycine, alanine, L-aminoadipic acid, valine, cystine, cystathionine, methionine, alloisoleucine, isoleucine, leucine, glucosamine, tyrosine, phenylalanine, β-aminoisobutyric acid, lysine, histidine, arginine and 2 unidentified ninhydrinpositive substances have been found in low molecular substances of hearth muscle.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Галоян А. А., Мурадян М. Ш. Вопросы биохимии мозга, Ереван, 6, 29, 1970.
2. Галоян А. А., Мурадян М. Ш. Биохимия, 37, 1, 35, 1972.
3. Галоян А. А., Мурадян М. Ш. Биолог. ж. Армении, 32, 2, 114, 1979.
4. Мурадян М. Ш., Едигарян А. Н., Галоян А. А. Биолог. ж. Армении, 28, 6, 1975. 1972.
5. Мурадян М. Ш. Канд. дисс., Ереван, 1975.
6. Палладин А. В., Белик Я. В., Поляков Н. М. Белки головного мозга и их обмен,
7. Awarara J. J. Biol. Chem., 218, 571, 1956.
8. Battistini L., Picozzi F., Lajtha A. Biochem. Biophys., 151, 102, 1972.
9. Dietrich J. and Diacono J. Life Sci., 10 (1): 499-507, 1971.

10. Fujimoto S. *Experientia*, **33**, 10, 1350—1352, 1977.
11. Huxtable R., Bressler R. In: *Taurine*, R. Huxtable and A. Barbeau, Eds., 99—119, New-York: Raven Press, 1976.
12. Jacobsen J. G. and Smith L. H. Jr. *Physiol. Rev.*, **48**, 424—511, 1968.
13. Koesis J. J., Kostooos V. J., Baskin S. I. In: *Taurine* 145, Eds. R. Huxtable and A. Barbeau, Raven Press, New-York, 1976
14. Lynn S. Bates, *Anal. Biochem.*, **41**, 158—161, 1971.
15. McBroom M. J. and Welty J. D. *J. of Molecular and Cellular Cardiology*, **9**, 10, 853—859, 1978.
16. Perry T. L., Sanders H. D., Hansen S., Lesk D., Kloster M. and Gravlin L. J. *Neurochem.*, **19**, 11, 265, 1972.
17. Peterson M. B., Nead R. J. and Welty J. D. *J. of Molecular and Cellular Cardiology*, **5**, 139—147, 1973.
18. Read W. O. and Welty J. D. *Electrolytes and cardiovascular Diseases, Review of Canadian Biology*. E. Bajuse, Ed., 70—85, 1965.
19. Siecel F. L. and Roach M. K. *Nor—Leucine*. *Anal. Chem.*, **41**, 158, 1971.
20. Spackman D. H., Stein W. H. and Moore S. *Anal. Chem.*, 1190—1206, 1958.
21. Waelsch H. In: *Protein metabolism in the nervous system*, 431, 1957.
22. Welty J. D. und Read W. O. *J. of Pharmacol. exp. Ther.*, **144**, 110—115, 1965.
23. Welty J. D., McBroom M. J., Applet A. W., Peterson M. B., Read W. O. In: *Taurine*, R. Huxtable and A. Barbeau Eds., 155—163, New-York: Raven Press, 1976.