

УДК 577.352

И. А. БАДАЛЯН, А. Л. ГРИГОРЯН

ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТ НА АМИДНЫЕ ГРУППЫ БЕЛКОВ ПЕЧЕНИ

Изучено изменение амидных групп белков печени крыс при инкубировании гомогенатов в присутствии аминокислот. Наблюдаемый при этом реальный прирост аммиака (сумма аммиака, глутамина и мочевины) не сопровождается уменьшением суммарного количества амидных групп белков. Наблюдается лишь определенное перераспределение между легко- и трудно-гидролизуемыми амидными группами. Можно заключить, что амидные группы белков не участвуют в механизмах аммиакообразования при инкубации гомогенатов с аминокислотами.

Ранее было показано, что при инкубировании гомогенатов печени крыс в присутствии различных L-аминокислот не наблюдается прирост свободного аммиака, но при этом синтезируется мочевина. С учетом того, что свободный аммиак вовлекается в биосинтез мочевины под влиянием карбамилфосфат-синтетазы, присутствующей в митохондриях печени [1], было сделано заключение о немедленном включении образовавшегося из аминокислот аммиака в биосинтез мочевины. Очевидно, о процессах аммиакообразования из аминокислот следует судить не только по приросту свободного аммиака, но и мочевины [2]. Для окончательного вывода необходимо проверить возможность дезамидирования белков в условиях наших экспериментов. Хотя амидным группам белков и придается большое значение в качестве источников аммиака [3], тем не менее отсутствуют прямые доказательства относительно дезамидирования белков в механизме аммиакообразования при инкубации срезов и гомогенатов органов. Имеются многочисленные данные об изменении амидированности белков, особенно мозга, в зависимости от функционального состояния организма и его реакций на действие экстремальных факторов среды (мышечное утомление, электрический ток, радиация, гипероксия, гипотония, камфора, этиловый спирт, инсулин, мексидол и др.) [4–7]. Изменений амидных групп белков органов, в том числе печени, при инкубировании гомогенатов не наблюдалось, хотя при этом продуцируется аммиак [8].

Целью нашей работы было исследовать изменения амидных групп белков при инкубировании гомогенатов печени в присутствии аминокислот.

Опыты проводили на белых крысах весом 200г. Извлекали печень и гомогенизировали в 0,05М К-фосфатном буфере, рН 7,4. Инкубировали 3ч

при 37°C в присутствии 0,6·10⁻³М L-аминокислот. После этого определяли в ТХУ-осадке амидные группы белков [9]. Для этого осадок последовательно обрабатывали смесями этанола с хлороформом (2:1), дважды этанола с эфиром (2:1) и трижды чистым эфиром. Затем пробы подвергали гидролизу в 1N H₂SO₄ при 100°C (30мин для легкогидролизуемых амидных групп (ЛАГ), 180мин для суммарных амидных групп (САГ), разность САГ и ЛАГ дает количество трудногидролизуемых амидных групп (ТАГ)). После нейтрализации гидролизата в нем определяли содержание аммиака микродиффузным методом Зелинксона в модификации Силаковой и сотрудиников [10].

Таблица

Содержание амидного азота белков гомогената печени крыс до и после трехчасовой инкубации в присутствии L-аминокислот (мкмоль на 1г свежей ткани), n=4

| Амидные группы | До инкубации | После инкубации в присутствии аминокислот | | | | | |
|----------------|--------------|---|------------|------------|-----------------------|------------------------|------------|
| | | – | орнитин | цитрулин | глутамино-вая кислота | аспарагино-вая кислота | аланин |
| САГ | 31,04±1,20 | 31,29±0,84 | 31,64±2,62 | 29,43±3,04 | 33,50±1,28 | 29,63±1,42 | 35,00±0,62 |
| ЛАГ | 21,08±1,86 | 18,18±0,82 | 16,42±1,14 | 16,36±1,84 | 17,21±2,24 | 21,55±1,68 | 19,29±1,44 |
| ТАГ | 9,96 | 12,71 | 15,22 | 13,07 | 16,29 | 8,08 | 15,71 |

Как видно из данных таблицы, при трехчасовой инкубации гомогенатов без аминокислот САГ не претерпевают изменений, хотя при этом происходит определенный прирост аммиака и мочевины [2]. При этом наблюдается некоторое перераспределение ЛАГ и ТАГ, а именно, несколько уменьшаются ЛАГ и увеличиваются ТАГ. При инкубации гомогенатов с различными аминокислотами, когда происходит значительный прирост мочевины, САГ не подвергаются существенным изменениям. Лишь в варианте с аланином можно отметить некоторую тенденцию к увеличению САГ (35,00мкмоль против 31,29мкмоль в инкубированной без аминокислот пробе), хотя и в данном варианте происходит определенный прирост мочевины [2]. Во всех вариантах с аминокислотами меняется соотношение ЛАГ и ТАГ в пользу увеличения ТАГ, за исключением варианта с аспарагиновой кислотой, когда ТАГ несколько уменьшается. Другими авторами [11] указывалось на перераспределение амидного азота между ЛАГ и ТАГ при экстремальных состояниях организма вследствие трансконформационных изменений белков. Это весьма интересный вопрос, дальнейшее изучение которого может раскрыть роль амидированности белков в механизмах обеспечения различных функциональных состояний органов и организма. На данном этапе исследований существенным является обнаруженный нами факт отсутствия заметных изменений в содержании САГ при инкубации гомогенатов с аминокислотами и без них, когда происходит значительный синтез мочевины. Это позволяет заключить, что при инкубации гомогенатов амидные группы белков не играют более или менее заметную роль в процессах аммиакообразования. Очевидно, наблюдаемые при этом аммиакообразование и синтез мочевины обусловлены, главным образом, дезаминированием аминокислот.

ЛИТЕРАТУРА

1. Grisolia S., Cohen P.P. – J. Biol. Chem., 1951, т. 191, p. 189.
2. Григорян Л. – Образование и наука в Арцахе, 2005, № 1–2, с. 136.
3. Vrba R. – Nature, 1955, т. 176, № 4472, p. 117.
4. Vrba R. – Там же, № 4496, p. 1258.
5. Гершеневич З.С., Кричевская А.А., Лукаш А.И., Ходыкина Н.А. В кн.: Третья все-союзная конференция по биохимии нервной системы. Ер.: Изд-во Ан Арм. ССР, 1963, с. 91.
6. Векслер И.Я., Магомедова К.М. – Укр. биохим. ж., 1987, т. 53, № 3, с. 7.
7. Кометиани П.А. – Биохимия, 1970, т. 35, № 2, с. 394.
8. Бадалян И.А., Давтян М.А. – Биол. ж. Армении, 1986, т. 39, № 11, с. 986.
9. Гершеневич З.С., Кричевская А.А. – Биохимия, 1960, т. 25, № 2, с. 310.
10. Силакова А.И., Труш Г.П., Явилякова А. – Вопросы мед. химии, 1962, т. 8, № 5, с. 538.
11. Гаевская М.С., Носова Е.А., Слез Л.М. – Укр. биохим. ж., 1965, т. 37, № 5, с. 69.

Ի. Ա. ԲԱԴԱԼՅԱՆ, Ա. Լ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ

ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ԼՅԱՐԴԻ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ԱՄԻԴԱՅԻՆ ԽՍՐԵՐԻ ՎՐԱ

Ամփոփում

Ուսումնասիրված են առնետների լյարդի սպիտակուցների ամիդային խմբերի փոփոխությունները հոմոգենատներում ամինաթթուների առկայությամբ ինկուբացնելիս: Այդ ընթացքում նկատվող ամոնիակի իրական աճը (ամոնիակի, գլյուտամինի և միզանյութի գումարը) չի ուղեկցվում սպիտակուցների ամիդային խմբերի գումարային քանակության նվազումով: Միայն նկատվում է հեշտ ու դժվար հիդրոլիզվող ամիդային խմբերի վերաբաշխում: Կարելի է եզրակացնել, որ լյարդի հոմոգենատները ամինաթթուների հետ ինկուբացնելիս սպիտակուցների ամիդային խմբերը չեն մասնակցում ամոնիակի գոյացման մեխանիզմում:

I. A. BADALYAN, A. L. GRIGORYAN

THE EFFECT OF AMINOACIDS ON THE PROTEIN AMID GROUPS OF LIVER

Summary

The effect of aminoacids was studied on the level of protein amid groups during incubation of rat liver homogenates. It has been established that ammonia and urea formed on incubation is not due to deamination of proteins. Only some inter change was shown between readily hydrolysable and hardly hydrolysable protein amid groups.