

Про перетворення аденозинотрифосфатної кислоти в м'язах.

Повідомлення третє.

Розпад аденозинотрифосфатної кислоти в ізольованих м'язах.

Проф. Д. Л. Фердман, О. І. Файншмідт і М. Т. Дмитренко.

Біохемічна лабораторія (зав.—проф. Д. Л. Фердман) Центрального інституту гієни праці і профзахворювань (дирекція—проф. З. Д. Горкін і заслуж. проф. Е. М. Каган).

У попередніх двох повідомленнях¹⁻² ми встановили, що при роботі жаб до стомлення в їх м'язах розпадається аденозинотрифосфатна кислота (АТФ) з утворенням неорганічного пірофосфату. При реституції стомлених жаб ми відзначали зникнення неорганічного пірофосфату при одночасному зворотному відновленні аденозинотрифосфатної кислоти. При постановці досліджень на цілій тварині у нас не було змоги варіювати кількість виконаної м'язами роботи і у зв'язку з цим ми не могли розв'язати питання про те, чи є залежність між об'ємом виконаної м'язом роботи і кількістю утвореного з АТФ неорганічного пірофосфату.

Ці дослідження ми провели на ізольованих м'язах жаб, при чому ми намагались розв'язати такі питання:

- 1) Чи утворюється неорганічна пірофосфатна кислота при роботі ізольованих м'язів?
- 2) Чи є зв'язок між виконаною м'язом роботою і утворенням неорганічного пірофосфату?
- 3) Чи є в стомлених м'язах вільна аденоїнова кислота?
- 4) Чи утворюється в м'язах інозинотрифосфатна кислота?

Методика.

Жабу убивали перерізанням спинного мозку. Для дослідження брали задні лапки, які подразнювались ізотонічно через п. ischiadicus 30 разів на хвилину переривчастим тетанічним способом. Подразнення робилося протягом двох або восьми хвилин. Відпрепаровані м'язи занурялось у рідке повітря, а потім розтиралось у ступці з додаванням рідкого повітря. Тонко розтерту м'язову кашку занурялось у 7% розчин трихлорацетатної кислоти і там відтаювалось. Білки осаджувались трихлорацетатною кислотою з розрахунку: 1 г м'язів + 2 об'єми кислоти.

Аденозинотрифосфатну кислоту визначалось з допомогою дезамінази м'язів за прописом, запропонованим Парнасом та Лютвак-Маян³. Поруч з цим аденозинотрифосфатну кислоту визначалось також з допомогою специфічної аденозинотрифосфатази, здобутої з серцевого м'яза за методом Якобсена⁴. В обох випадках кількість АТФ визначалось у Ва-осадах, здобутих з безбілкового м'язового екстракту. Осади ці готувались за

Парнасом і Лютвак - Манн³. У цих же осадах визначалось також кількість пірофосфатної фракції (кількість о - фосфатної кислоти, яка утворюється при 15 - хвилинному гідролізі в нормальній хлоридній кислоті при 100°*).

Кількість аденілової кислоти визначалось так. До 1 куб. см, нейтралізованого на бромтимолблау безбілкового м'язового екстракту, додавалось 3 куб. см води і 1 куб. см суспензії тонко подрібненої м'язової кашки у фосфатному буфері при $R_n = 7$ (дезаміназа), перемішувано і відстоювано при 40° протягом 2 годин. З кількості утворюваного при цих умовах амоніаку можна мати уявлення про сумарну кількість аденозинотрифосфатної й аденілової кислоти. Знаючи кількість АТФ за аналізом Ва - осадів, можна з різниці визначити кількість аденілової кислоти.

У безбілкових екстрактах визначалось також кількість преформованого амоніаку. Амоніак визначалояся з допомогою модифікованих нами адсорбційних приладів Конвей⁵.

У безбілкових екстрактах, здобутих з окремих м'язових наважок, визначалось кількість креатинфосфатної кислоти за методом Фіске і Зуббаров⁶.

Експериментальні дані.

Для з'ясування питання, чи при роботі ізольованих м'язів розпадається аденозинотрифосфатна кислота з утворенням неорганічного пірофосфату, подібно до того, як це відзначається, при роботі м'язів у цілому організмі, ми поставили кілька експериментів, в яких м'язи однієї кінцівки до оброблення рідким повітрям подразнювались переривчастим тетанічним способом протягом 8 хвилин, м'язи ж другої кінцівки не подразнювались. Крім того, проведено визначення кількості АТФ і продуктів її розпаду у м'язах правої й лівої кінцівки жаб у стані спокою.

Дані таблиці 1 показують, що кількість АТФ, амоніаку, аденілової кислоти, неорганічного пірофосфату і пірофосфатної фракції у м'язах правої й лівої кінцівки в основному однакова (експерименти №№ 28 і 29).

Як видно з даних експериментів №№ 5—24, у працюючих м'язах завжди спостерігається чималий розпад АТФ (графи 6 і 9) з утворенням неорганічного пірофосфату. Кількість пірофосфатної фракції (суми $P-H_4P_2O_7$, яка входить до складу АТФ, і P -неорганічної пірофосфатної кислоти) у працюючому м'язі залишається майже незмінена. Кількість неорганічної пірофосфатної кислоти у процентах пірофосфатної фракції у м'язах кінцівок жаб у спокійному стані, як це видно з графі 11, коливається в межах від 0 до 10,8%; у м'язах же, які працювали протягом 8 хвилин, ця кількість коливається в межах від 25,7 до 38,0%. Ці дані з безперечною показують, що робота м'язів ізольованих кінцівок жаб завжди супроводжується розпадом АТФ з утворенням неорганічної пірофосфатної кислоти.

Відщеплення неорганічної пірофосфатної кислоти від АТФ повинно призвести до утворення аденілової кислоти. Природно виникає питання про її дальшу долю у м'язах. Наші дослідження дають змогу підійти до розв'язання питання про дальше перетворення аденілової кислоти.

У графі 5 табл. 1 подано дані про сумарну кількість $N-NH_2$ аденілової кислоти і АТФ. Ці дані показують, що в м'язах працюючих кінцівок кількість цієї суми завжди нижча, ніж в м'язах у стані спокою (4,22—5,59 мг% $N-NH_2$ в м'язах у стані спокою, 3,70—4,45 мг%

* Для визначення пірофосфатної фракції у Ва - осадах треба робити гідроліз не протягом 7 хв., а протягом 15 хв. Тільки при цій умові відщеплюється стільки фосфору, скільки його утворюється при 7 - хвилинному гідролізі екстракту.

у працюючих м'язах). Отже, певна кількість утвореної аденілової кислоти дезамінувалася. Це дезамінування повинно призвести до підвищення кількості амоніаку в м'язах, які працювали. Дані графі 4 показують, що кількість $N-NH_3$ у м'язах, які працювали, справді вища, ніж в м'язах у стані спокою. У графі 7 табл. 1 подано дані про кількість у м'язах $N-NH_3$ аденілової кислоти. Тоді як кількість $N-NH_3$ аденілової кислоти в м'язах у стані спокою коливається в межах від 0 до 0,47 мг %, у м'язах, які працювали, кількість її доходить від 0,38 до 1,49 мг %. Отже, аденілова кислота, яка утворилася при роботі м'язів, частково дезамінується і перетворюється на інозинову кислоту, частково ж вона залишається у незміненій вигляді.

У серії експериментів ми намагались з'ясувати, чи є зв'язок між об'ємом роботи м'язів і кількістю утворюваної при розпаді АТФ неорганічної пірофосфатної кислоти. У цих експериментах ми порівнювали кількість АТФ і продуктів її розпаду: а) у м'язах кінцівки в стані спокою і в м'язах кінцівки під переривчастим тетанічним скороченням протягом 2 хвилин; б) у м'язах кінцівок, які скорочувалися протягом 2 хвилин і протягом 8 хвилин; в) у м'язах правої й лівої кінцівки, які працювали протягом 2 хвилин, і, нарешті, г) у м'язах правої й лівої кінцівок, які працювали протягом 8 хвилин. Результати цих досліджень подано в таблиці 2. Як видно з даних графі 9 і 10, робота кінцівок протягом 2 хвилин завжди призводить до розщеплення АТФ з утворенням неорганічної пірофосфатної кислоти, при чому цей розпад менший, ніж в м'язах кінцівок, які працювали протягом 8 хвилин. Тоді як в останніх неорганічна пірофосфатна кислота становить від 20,5 до 39,5% усієї пірофосфатної фракції, у м'язах, які скорочувалися протягом 2 хвилин, неорганічний пірофосфат становить тільки від 13,6 до 29,5%. У м'язах кінцівок, які працювали протягом 2 хвилин, збільшилась кількість $N-NH_3$, проте це збільшення завжди менш виявлене, ніж в м'язах, які працювали протягом 8 хвилин. Відповідно до цього кількість інозинової кислоти у м'язах, які працювали 2 хвилини, нижча, ніж в м'язах, які працювали протягом 8 хвилин.

Як видно з даних графі 7 табл. 2, у м'язах, які працювали протягом 2 хвилин, завжди є вільна аденілова кислота, при чому кількість її менша, ніж у м'язах, які працювали 8 хвилин.

Як у табл. 1, так і в табл. 2, у графі 10 подано цифри кількості неорганічної пірофосфатної кислоти, здобуті відйманням з пірофосфатної фракції кількості $P-H_4P_2O_7$, яка належить до складу АТФ. Таким чином, кількість неорганічного пірофосфату ми визначали у поданих дослідженнях не безпосередньо, а посередньо. Подібне посереднє визначення кількості неорганічної пірофосфатної кислоти можна робити тільки в тому разі, якщо в м'язах нема інозинотрифосфатної кислоти. Питання про можливість ферментативного утворення у м'язах інозинотрифосфатної кислоти не розв'язане ще остаточно. Тоді як Ломанові⁷ удалось виділити з продуктів ферментативного розщеплення АТФ препарат, який складається на $\frac{3}{4}$ з інозинотрифосфатної кислоти і на $\frac{1}{4}$ з АТФ, Парнас і його співробітники⁸ вважають, що інозинотрифосфатна кислота ферментативно з АТФ не утворюється.

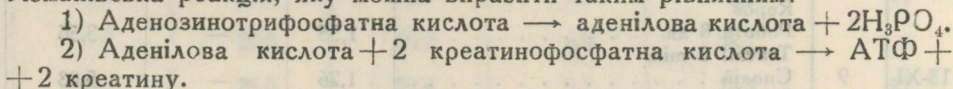
Для розв'язання питання про те, чи в умовах наших експериментів утворювалась з АТФ інозинотрифосфатна кислота, а значить, чи мали ми підставу визначати кількість неорганічної пірофосфатної кислоти не безпосередньо, а посередньо, ми майже в усіх поданих у таблицях 1 і 2 експериментах визначали АТФ одночасно як з допомогою дезамінази (значить, за $N-NH_3$), так і з допомогою специфічної аденозинотрифосфатази (за $P-H_4P_2O_7$, яка належить до складу АТФ). Поруч

з цим, ми в окремих експериментах визначали неорганічний пірофосфат з допомогою пірофосфатази (за Ломаном⁹). Якщо інозинотрифосфатної кислоти не виявлялося, то кількість $N-NH_2$ визначена з допомогою дезамінази, повинна відповідати кількості $P-H_4P_2O_7$ аденозинотрифосфатної кислоти, встановлений з допомогою аденозинотрифосфатази.

Дані, частково подані в табл. 3, показують, що в умовах наших експериментів у м'язах така відповідність є. Поруч з цим у м'язах, які працювали, ми виявляємо з допомогою пірофосфатази відповідну кількість неорганічної пірофосфатної кислоти.

Результати наших даних дають змогу зробити висновок, що АТФ при роботі м'язів розпадається з утворенням неорганічної пірофосфатної кислоти та аденілової кислоти, яка частково дезамінується з утворенням інозинової кислоти та амоніаку. Нагромадження неорганічної пірофосфатної кислоти залежить від виконаної м'язом роботи. Констатовані нами факти особливо цікаві у зв'язку з поглядами Ломана і Парнаса та його співробітників на взаємозв'язок окремих хемічних процесів у м'язах.

Досліджуючи процес ферментативного перетворення креатинфосфатної кислоти у м'язових екстрактах, Ломан¹⁰, на підставі результатів своїх досліджень, дійшов висновку, що розпад креатинфосфатної кислоти пов'язаний з перетворенням АТФ. Цим була встановлена так звана Ломанівська реакція, яку можна виразити таким рівнянням:



Переносючи дані експериментів з м'язовими екстрактами на працюючий м'яз, Ломан гадає, що при м'язовому скороченні насамперед розпадається АТФ. Реакція розпаду АТФ стає оборотною завдяки розпадові креатинфосфатної кислоти. У 1928 році Ломан¹¹, вивчаючи кількість пірофосфатної фракції у працюючих м'язах (тоді гадали, що ця фракція складається тільки з неорганічної пірофосфатної кислоти), виявив, що при роботі до середнього ступеня стомлення кількість цієї фракції у м'язах залишається без змін. Тільки при стомленні можна спостерігати зменшення кількості пірофосфатної фракції у м'язах.

1934 року Ломан¹⁰, виходячи з визначеного ним взаємозв'язку перетворення АТФ і креатинфосфатної кислоти в м'язових екстрактах, дає таке пояснення фактам, що він їх відзначив 1928 року. Він гадає, що при роботі до середнього ступеня стомлення кількість АТФ у м'язах зберігається завдяки тому, що креатинфосфатна кислота розпадається. Тільки при великому стомленні, коли розпалась значна частина креатинфосфатної кислоти, кількість АТФ зменшується. Ломан, як уже вказувалось, 1928 року вивчав кількість всієї пірофосфатної фракції у м'язах. 1934 року, не зважаючи на можливість утворення неорганічного пірофосфату у м'язах, Ломан гадав, що пірофосфатна фракція складається з самої аденозинотрифосфатної кислоти, і це дало йому підставу так інтерпретувати результати своїх досліджень.

У наших дослідженнях ми мали незначне й середнє стомлення м'язів. Постановкою наші експерименти не відрізнялись принципіально від експериментів Ломана¹¹. Кількість пірофосфатної фракції у м'язах, які працювали 2 хвилини і 8 хвилин, залишалась приблизно така сама, як і в м'язах у стані спокою. Кількість креатинфосфатної кислоти під впливом роботи зменшувалась, доходячи до мінімуму (3 мг%) після 8 хвилин роботи. Щодо кількості пірофосфатної фракції, то нам удалось констатувати, що в працюючому м'язі ця фракція складається як з АТФ, так і з неорганічної пірофосфатної кислоти, при чому кількість $P-H_4P_2O_7$ у м'язі, який працював 8 хвилин, вища, ніж у м'язі, який

Таблиця 1. Розпад аденозинотрифосфатної
Table 1. Décomposition de l'acide adénosinotriphosphorique

Дата Date	№ експериментів № de l'expérience	Умови експерименту Conditions de l'expérience	N—NH ₃ N—NH ₃	N—NH ₂ АТФ і аденоіло- вої кислоти N—NH ₂ de l'acide adéno- sinotriphosphorique et de l'acide adenylique	N—NH ₂ АТФ N—NH ₂ de l'acide adéno- sinotriphosphorique
1	2	3	4	5	6
1935 19-X	28	Спокій Reros	2,11	5,03	4,74
		Спокій Reros	2,05	5,00	4,70
29-X	29	Спокій Reros	1,83	4,83	4,56
		Спокій Reros	1,86	4,81	4,56
9-XI	5	Спокій Reros	1,33	—	4,72
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	1,55	—	3,56
13-XI	9	Спокій Reros	1,26	—	5,03
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	2,84	—	4,06
15-XI	12	Спокій Reros	1,63	4,22	4,30
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	2,36	3,70	3,32
20-XI	13	Спокій Reros	1,98	5,25	5,02
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	3,25	4,00	3,09
20-XI	14	Спокій Reros	1,50	4,50	4,50
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	2,25	4,20	3,00
20-XI	15	Спокій Reros	1,33	4,94	4,50
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	2,08	4,37	2,88
26-XI	16	Спокій Reros	2,16	4,95	4,60
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	2,79	3,90	3,24
26-XI	17	Спокій Reros	2,05	4,94	4,52
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	2,73	4,45	3,53
1-XII	20	Спокій Reros	2,00	5,51	5,04
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	3,34	4,25	3,36
7-XII	24	Спокій Reros	2,26	5,59	5,40
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	2,88	4,45	3,63
Середнє з №№ 12—24		Спокій Reros	1,89	4,99	4,74
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	2,71	4,16	3,26

кислоти в м'язах при 8-хвилинній роботі.
 dans les muscles après un travail de 8 minutes.

N-NH_2 аденілової ки- слоти (5—6) N-NH_2 de l'acide adény- lique (5—6)	Р—пірофосфатної фракції Р—de la fraction pyro- phosphatique	$\text{P-H}_4\text{P}_2\text{O}_7$ АТФ $\text{P-H}_4\text{P}_2\text{O}_7$ de l'acide adénosinotriphosphorique	Р—неорганічного піро- фосфату (8—9) Р—du pyrophosphate inorganique (8—9)	Р—неорганічного піро- фосфату в процентах пірофосф. фракції Р—du pyrophosphate inorganique en % de la fraction pyrophosphatique	Р—креатинфосфатної кислоти Р—de l'acide créatino- phosphatique
7	8	9	10	11	12
0,29	22,0	21,0	1,0	4,5	—
0,30	22,0	20,9	1,1	5,0	—
0,27	21,5	20,0	1,5	7,0	—
0,25	21,5	20,0	1,5	7,0	—
—	22,0	20,9	1,1	5,2	41
—	22,0	15,7	6,3	28,7	8
—	25,0	22,3	2,7	10,8	37
—	25,0	17,5	7,5	30,0	3
0	19,0	19,0	0	0	30
0,38	20,0	14,7	5,3	26,5	7
0,23	23,0	22,2	0,8	3,5	—
0,91	20,0	13,7	6,3	31,5	—
0	22,0	19,9	2,1	9,5	—
1,20	19,0	13,7	5,3	27,9	—
0,44	20,0	20,0	0	0	—
1,49	20,0	12,8	7,2	36,0	—
0,35	21,0	20,4	0,6	2,9	33
0,66	21,5	15,0	6,5	30,2	6
0,42	21,5	20,0	1,5	7,0	38
0,92	21,0	15,6	5,4	25,7	4
0,47	24,3	22,3	2,0	8,2	3,1
0,89	24,0	14,9	9,1	38,0	3
0,19	24,5	23,9	0,6	2,7	30
0,82	23,0	16,0	7,0	30,4	3
0,25	22,0	21,0	1,0	4,5	—
0,90	21,0	14,5	5,5	31,0	—

Таблиця 2. Розпад аденозинотрифосфатної
Table 2. Décomposition de l'acide adénosinotriphosphorique

Дата Date	№№ експериментів № de l'expérience	Умови експерименту Conditions de l'expérience	N—NH ₃ N—NH ₃	N—NH ₂ АТФ і аде- вілової кислоти N—NH ₂ des acides adéno- sinotriphospho- rique et adény- lique	N—NH ₂ АТФ N—NH ₂ de l'acide adéno- sinotriphospho- rique
1	2	3	4	5	6
1935-1-XII	21	Спокій Repos	2,40	4,53	4,30
		Робота 2 хв. Travail 2 min.	3,32	3,97	3,53
7-XII	25	Спокій Repos	2,40	5,44	5,20
		Робота 2 хв. Travail 2 min.	2,69	5,30	4,38
19-XII	32	Спокій Repos	1,66	4,64	4,56
		Робота 2 хв. Travail 2 min.	2,19	4,10	3,42
20-XII	33	Спокій Repos	1,73	4,85	4,50
		Робота 2 хв. Travail 2 min.	1,86	4,70	3,62
13-XII	8	Робота 2 хв. Travail 2 min.	1,23	—	4,30
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	1,55	—	3,25
15-XII	11	Робота 2 хв. Travail 2 min.	1,83	4,62	3,90
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	1,86	4,59	3,60
1-XII	22	Робота 2 хв. Travail 2 min.	2,60	—	4,00
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	3,33	—	3,42
1-XII	23	Робота 2 хв. Travail 2 min.	3,07	—	3,81
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	3,25	—	3,12
7-XII	26	Робота 2 хв. Travail 2 min.	3,25	4,25	3,51
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	3,36	3,96	3,00
7-XII	27	Робота 2 хв. Travail 2 min.	2,30	5,02	4,21
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	3,54	4,86	3,30
13-XII	7	Робота 8 хв. Travail 8 min.	1,80	—	3,74
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	1,85	—	3,58
15-XII	10	Робота 8 хв. Travail 8 min.	2,26	4,49	3,02
		Робота 8 хв. Travail 8 min.	2,17	4,49	3,20
19-XII	30	Робота 2 хв. Travail 2 min.	2,17	4,97	3,99
		Робота 2 хв. Travail 2 min.	2,22	4,91	3,93
20-XII	31	Робота 2 хв. Travail 2 min.	2,00	4,96	4,11
		Робота 2 хв. Travail 2 min.	1,97	4,99	4,20

кислоти в м'язах при 2-хвилинній роботі.
dans les muscles après un travail de 2 minutes.

N—NH ₂ аденилової кислоти (5—6) N—NH ₂ de l'acide adénylique	P—піро- фосфатної фракції P—de la fraction pyrophos- phatique	P—H ₄ P ₂ O ₇ АТФ P—H ₄ P ₂ O ₇ de l'acide adénosino- triphos- phorique	P—неорга- нічного піро- фосфату (8—9) P—du phos- phate inorga- nique	P—неорган. H ₄ P ₂ O ₇ в про- центах пірофо- сфат. фракції P—de H ₄ P ₂ O ₇ inorganique en % de la fraction pyro- phosphatique	P—креатино- фосфатної кислоти P—de l'acide créatino- phosphorique
7	8	9	10	11	12
0,23	22,0	19,0	3,0	13,6	30
0,44	22,0	15,6	6,4	29,1	8
0,24	24,0	23,0	1,0	4,1	32
0,92	23,0	19,4	3,6	15,6	22
0,08	20,5	20,2	0,3	1,4	—
0,68	20,5	15,1	5,4	26,3	—
0,35	21,0	20,0	1,0	4,7	—
1,08	21,0	16,0	5,0	23,8	—
—	22,0	19,0	3,0	13,6	11
—	22,0	14,4	7,6	34,5	3
0,72	21,0	17,2	3,8	18,2	13
0,99	20,0	15,9	4,1	20,5	9
—	22,0	17,7	4,3	19,6	8
—	21,5	15,1	6,4	29,9	5
—	23,0	16,9	6,1	25,0	9
—	21,0	13,8	7,2	34,3	3
0,74	22,0	15,6	6,4	29,1	6
0,96	22,0	13,3	8,7	39,5	3
0,81	22,0	17,2	4,8	21,8	13
1,56	22,0	14,6	7,4	33,6	4
—	24,0	16,5	7,5	31,3	4
—	24,0	15,8	8,2	34,2	4
1,47	20,0	13,4	6,6	33,0	4
1,29	20,0	14,2	5,8	29,0	4
0,98	22	17,7	4,3	19,5	—
0,98	22	17,4	4,6	20,9	—
0,85	22,5	18,2	4,3	19,1	—
0,79	22,5	18,5	4,0	17,8	—

Таблиця 3. Визначення в м'язах АТФ і неорганічного пірофосфату з допомогою аденозинотрифосфатази, дезамінази і пірофосфатази.

Table 3. Détermination de l'acide adénosinotriphosphorique et du pyrophosphate inorganique dans les muscles à l'aide de l'adénosinotriphosphatase, de la désaminase et de la pyrophosphatase.

Дата Date	№№ експериментів № de l'expérience	Умови експерименту Conditions de l'expérience	Р-пірофосфатної фракції P de la fraction pyrophosphatique	N-NH ₂ АТФ N-NH ₂ de l'acide adénosinotriphosphorique	Р-Н ₄ Р ₂ О ₇ АТФ обчислено за (5) P-H ₄ P ₂ O ₇ de l'acide adénosinotriphosphorique pendant (5)	Р-Н ₄ Р ₂ О ₇ АТФ визначено з допомогою аденозинотрифосфатази P-H ₄ P ₂ О ₇ de l'acide adénosinotriphosphorique établi avec de l'adénosinotriphosphatase	Р-неорган. пірофосфату (4-6) P du pyrophosphate inorganique (4-6)	Р-неорган. пірофосфату визначено з допомогою пірофосфатази P du pyrophosphate inorganique établi avec de la pyrophosphatase
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1935 10-X	1*	Спокій Repos	27	6,10	27,0	27	0	1
		Робота Travail	24	3,27	14,5	13	9,5	10
11-X	2	Спокій Repos	25	5,40	24,0	23	1,0	1
		Робота Travail	23	3,73	16,5	16	6,5	8
15-X	3	Спокій Repos	25	5,40	24,0	25,0	1,0	0
		Робота Travail	25	3,58	16,0	17,0	8,0	9
15-X	4	Спокій Repos	31	6,77	30,0	30,0	1,0	1

* Експерименти №№ 1—4 поставлено на цілих жабах,

Дата Date	№№ експериментів № de l'expérience	Умови експерименту Conditions de l'expérience	P-пірофосфатної фракції P de la fraction pyrophosphatique	N-NH ₂ АТФ N-NH ₂ de l'acide adénosinotriphosphorique	P-H ₄ P ₂ O ₇ АТФ обчислено за (5) P-H ₄ P ₂ O ₇ de l'acide adénosinotriphosphorique pendant (5)	P H ₄ P ₂ O ₇ АТФ визначено з допомогою аденозинотрифосфатази P-H ₄ P ₂ O ₇ de l'acide adénosinotriphosphorique établi avec de l'adénosinotriphosphatase	P-неорган. пірофосфату (4-6) P-du pyrophosphate inorganique (4-6)	P-неорган. пірофосфату визначено з допомогою пірофосфатази P du pyrophosphate inorganique établi avec de la pyrophosphatase
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1935 15-X	4	Робота Travail	30	4,40	18,0	18,0	12,0	12
26-XI	16	Спокій Repos	21	4,60	20,4	20,6	0,6	—
		Робота 8 хв. . . Travail 8 min.	21,5	3,24	14,6	15,1	6,9	—
20-XI	17	Спокій Repos	21,5	4,52	20,0	19,5	1,5	—
		Робота 8 хв. . . Travail 8 min.	21	3,53	15,6	15,0	5,4	—
7-XII	25	Спокій Repos	24	5,20	23,0	23,0	1,0	—
		Робота 2 хв. . . Travail 2 min.	23	4,38	19,4	19,0	3,6	—
7-XII	27	Робота 2 хв. . . Travail 2 min.	22	4,21	17,2	18	4,8	—
		Робота 8 хв. . . Travail 8 min.	22	3,30	14,6	15	7,4	—

працював 2 хвилини. Значить, результати наших досліджень показують, що встановлену Ломаном у ферментних розчинах реакцію перетворення АТФ і креатинінофосфатної кислоти не можна безпосередньо переносити на цілий м'яз і пояснити, виходячи з неї, процеси при роботі м'язів.

Визначені нами дані про шляхи перетворення АТФ при роботі м'язів таксамо суперечать поглядам Парнаса та його співробітників про взаємозв'язок хемічних процесів у м'язах.

Згідно з схемою Парнаса та його співробітників, АТФ є донатором фосфату для фосфорування продуктів розпаду глікогену (гексози). З цього погляду у м'язах не повинно бути ані утворення неорганічної пірофосфатної кислоти, ані її нагромадження. Далі, як це вважає Парнас та його співробітники, ресинтез розпалої аденозинотрифосфатної кислоти забезпечується перенесенням на аденілову кислоту 2 молекул о-фосфатної кислоти. Дані ж наших досліджень показують, що ресинтез АТФ залежить від приєднання до аденілової кислоти неорганічного пірофосфату.

При побудові своєї схеми взаємозв'язку хемічних процесів у м'язах Парнас виходить з такого апіорного припущення. Він вважає, що аденозинотрифосфатна кислота знаходиться у зв'язаному тканиною стані. Віддаючи 2 молекули H_3PO_4 гексозі, вона перетворюється на аденілову кислоту. У тканинах, проте, підготовані механізми, які сприяють негайному ресинтезу аденозинотрифосфатної кислоти, тим то аденілова кислота не може нагромаджуватися у тканині, а звідтіля переходить у кров. Цим, на думку Парнаса, організм обороняється від впливу фармакологічно активної речовини—аденілової кислоти. У тих випадках, коли чомусь аденілова кислота не встигає ресинтезуватися в АТФ, тоді вона під впливом дезамінази перетворюється на інозинову кислоту.

Як ми виявили, у м'язах при їх роботі нагромаджується в досить великих кількостях аденілова кислота. Поруч з цим, як вже згадувалось, нагромаджується неорганічний пірофосфат. Ці дані зовсім не узгоджуються з схемою Парнаса і експериментально відкидають телеологічну концепцію, покладену Парнасом в її основу.

Висновки.

1. При роботі ізольованих кінцівок жаб в їх м'язах розпадається аденозинотрифосфатна кислота з утворенням неорганічної пірофосфатної кислоти.

2. Кількість утворюваної в м'язах неорганічної пірофосфатної кислоти залежить від об'єму виконаної роботи.

3. У працюючих м'язах є досить великі кількості аденілової кислоти.

4. У працюючих м'язах не спостерігається утворення інозинотрифосфатної кислоти.

Література.

1. Фердман і Файншмідт — Експериментальна мед., № 7, 1935. і Biochem. Ztschr. 277, 203, 1935.
2. Фердман і Файншмідт — Експериментальна мед. № 12, стор. 40, 1935 і Biochem. Ztschr. 284, 3, 1936.
3. Parnas u. Lutvak-Mann. — Biochem. Ztschr. 278, 11, 1935.
4. Jakobsen — Biochem. — Ztschr., 242, 292, 1931.
5. Conway — Biochem. J. 27, 419, 1933.
6. Fiske u. Subbarow — J. Biol. Chem., 81, 629, 1931.
7. Lohmann. — Biochem. Ztschr. 253, 431, 1932.
8. Parnas. — Klin. Wschr., 29, 1017, 1935.
9. Lohmann. — Biochem. Ztschr. 272, 24, 1934.
10. Lohmann. — Biochem. Ztschr., 271, 264., 1934.
11. Lohmann. — Biochem. Ztschr., 203, 172 1928.

О превращении аденозинтрифосфорной кислоты в мышцах.

Сообщение третье.

Распад аденозинтрифосфорной кислоты в изолированных мышцах.

Проф. Д. Л. Фердман, О. И. Файншмидт и М. Т. Дмитренко.

Биохимическая лаборатория (зав.—проф. Д. Л. Фердман) Центрального института гигиены труда и профессиональных заболеваний (директор — проф. З. Д. Горкин и засл. проф. Э. М. Каган).

В предыдущих двух сообщениях^{1,2} было установлено, что при работе лягушек (до утомления) в их мышцах происходит распад аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) с образованием неорганического пирофосфата. Настоящее исследование произведено на изолированных мышцах лягушек, причем мы попытались подойти к выяснению следующих вопросов:

1. Образуется ли при работе изолированных мышц неорганическая пирофосфорная кислота.

2. Имеется ли связь между произведенной мышцей работой и образованием неорганического пирофосфата.

3. Имеется ли в утомленных мышцах свободная адениловая кислота.

4. Образуется ли в мышцах инозинотрифосфорная кислота.

Работа производилась на изолированных задних лапках лягушек, которые раздражались изотонически через п. *ischiadicus* в течение 2 и 8 минут по 30 раз в минуту. Определения АТФ производились при помощи: дезаминазы по Парнасу и Лютвак-Мани³ и специфической аденозинтрифосфатазы Якобсена⁴.

Суммарное количество адениловой и аденозинтрифосфорной кислоты определялось по аммиаку, образующемуся в безбелковом экстракте под влиянием действия на него дезаминазы. Содержание адениловой кислоты устанавливалось по разности.

Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что содержание аденозинтрифосфорной и адениловой кислоты, неорганического пирофосфата и пирофосфатной фракции (Р — отщепляющийся от неорганического пирофосфата и от АТФ при 7-минутном гидролизе безбелкового экстракта в pH 5 при 100°) в основном одинаковое в мышцах обеих конечностей (опыты №№ 28 и 29). В работавших в течение 8 мин. мышцах всегда наблюдается значительный распад АТФ (графа 9 и 10) с образованием неорганического пирофосфата. Содержание пирофосфатной фракции остается почти без изменения.

Как видно из графы 7, содержание адениловой кислоты в неработающих мышцах незначительно и колеблется в пределах от 0—0,47 мг % $\text{N}—\text{NH}_2$, в работающих же мышцах ее содержание колеблется в пределах от 0,38 до 1,49 мг %.

Данные таблицы 2 показывают, что после 2-минутной работы распад АТФ с образованием неорганического пирофосфата происходит в меньшем объеме, чем после 8-минутной работы. В первом случае содержание неорганического пирофосфата составляет от 13,6 до 29,5% всей пирофосфатной фракции, во втором — 20,5—39,5%. Точно также содержание адениловой кислоты в мышцах, работавших в продолжение 2 мин., ниже, чем в работавших 8 минут.

Исследование состава „пирофосфатной фракции“ при помощи деаминазы, аденозинотрифосфатазы и пирофосфатазы показывает, что как в покойных, так и работавших мышцах инозинотрифосфатной кислоты нет (см. табл. 3).

Полученные нами данные о пути превращения аденозинотрифосфорной кислоты при работе мышц показывают, что нельзя, как это делает Ломан, переносить установленную им¹⁰ в ферментных экстрактах реакцию взаимосвязи между превращением аденозинотрифосфорной и креатинофосфорной кислоты на целую мышцу.

Установленное нами наличие адениловой кислоты в работавших мышцах экспериментально опровергает телеологическую концепцию, положенную Парчасом в основу его схемы о взаимосвязи химических процессов в мышцах.

La transformation de l'acide adénosinotriphosphorique dans les muscles.

Communication III.

Décomposition de l'acide adénosinotriphosphorique dans les muscles isolés.

Prof. D. L. Ferdmann, O. I. Fainschmidt et M. T. Dmitrenko

Laboratoire de biochimie (chef — prof. D. L. Ferdmann) de l'Institut Central de l'hygiène du travail et des maladies professionnelles (directeur — prof. S. D. Gorkine et prof. émérite E. M. Kagan).

Dans les deux communications précédentes il a été établi que le travail jusqu'à l'état de fatigue provoque dans les muscles de la grenouille une décomposition de l'acide adénosinotriphosphorique accompagnée d'une formation de pyrophosphate inorganique. Les observations qui sont l'objet de la présente communication ont été faites sur des muscles isolés, elles avaient pour but de vérifier:

1. S'il se forme de l'acide pyrophosphorique inorganique dans les muscles isolés, pendant le travail de ceux-ci.
2. S'il existe un rapport entre le travail fourni par le muscle et la formation du pyrophosphate inorganique.
3. S'il existe dans les muscles fatiguées de l'acide adénylique libre.
4. S'il se forme dans les muscles de l'acide inosinotriphosphorique.

Les observations étaient faites sur les membres postérieurs isolés de la grenouille, stimulés isotoniquement par la voie du nerf sciatique pendant 2 et 8 minutes, 30 fois par minute.

L'acide adénosinotriphosphorique était déterminé à l'aide de la désaminase d'après Parnasse et Lutvak-Mann et à l'aide de l'adénosinotriphosphatase spécifique de Jakobsen.

La quantité totale d'acides adénylique et adénosinotriphosphorique était déterminée d'après la quantité d'ammoniaque, formée dans l'extrait libre de matières albuminoïdes sous l'action de la désaminase. La teneur en acide adénylique était établie par différence.

La table 1 montre que les muscles des deux extrémités contiennent pratiquement les mêmes quantités d'acides adénosinotriphosphorique et adénylique de pyrophosphate inorganique et de fraction pyrophosphatique (P se séparant du pyrophosphate inorganique et de l'acide adénosinotriphosphorique au cours d'une hydrolyse de 7 minutes dans n HCl à 100°) (observations 28 et 29). Dans les muscles qui ont travaillé pendant 8 minutes on constate toujours une décomposition de l'acide adénosinotriphos-

phorique (colonnes 9 et 19), accompagnée de la formation de pyrophosphate inorganique. La quantité de fraction pyrophosphatique ne change pas.

Comme on peut le voir des chiffres contenus dans la colonne 7, la quantité d'acide adénylique dans les muscles n'ayant pas travaillé est insignifiante, elle oscille entre 0—0,47 mg % $N-NH_2$, alors que dans les muscles ayant travaillé elle oscille entre 0,38—1,49 mg %.

Les données de la table 2 montrent qu'après un travail de 2 minutes la décomposition de l'acide adénosinotriphosphorique avec formation de pyrophosphate inorganique est moindre qu'après un travail de 8 minutes. Dans le premier cas le pyrophosphate inorganique forme de 13,6 à 29,5 % de la fraction pyrophosphatique totale, dans le deuxième cas — de 20,5 à 39,5 %. De même, la teneur en acide adénylique des muscles ayant travaillé pendant 2 minutes, est moindre que celle des muscles ayant travaillé 8 minutes.

L'examen de la composition de la fraction pyrophosphatique par la désaminase, l'adénosinotriphosphatase et la pyrophosphatase montre qu'il n'y a d'acide inosinotriphosphorique ni dans les muscles au repos, ni dans ceux qui ont travaillé (voir table 3).

Les données que nous avons obtenues sur les voies de transformation de l'acide adénosinotriphosphorique dans les muscles pendant le travail montrent qu'on ne peut guère attribuer, comme le fait Lohmann, la réaction de rapport entre les acides adénosinotriphosphorique et créatinophosphorique, établie pour les extraits de ferments, au muscle entier.

La présence d'acide adénylique dans les muscles après le travail que nous avons établie au cours de nos expériences, réfute la conception téléologique que Parnasse a mise à la base de son schéma des rapports entre les phénomènes chimiques dans les muscles.

~~K-4489~~

П48783/5

Экспериментальная Медицина

Шестьдесятый журнал



№ 5

Травень
Mai

1936

La médecine
expérimentale

Переводчик