

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ГЕКСОКИНАЗЫ И ЕЕ ИЗОФЕРМЕНТНОГО СОСТАВА В СЕРДЕЧНОЙ И ДРУГИХ МЫШЦАХ ПОД ВЛИЯНИЕМ НЕЙРОГОРМОНА С

С. С. АЛЕКСАНЯН, Л. А. ҚАРАПЕТЯН

Изучались общая активность и изоферментный спектр гексокиназы (ГК) под влиянием нейрогормона С у кроликов в сердечной, гладкой, медленно сокращающейся красной и быстро сокращающейся белой скелетной мышцах. Показано, что введение нейрогормона С приводит к увеличению активности ГК в сердечной мышце. При электрофоретическом анализе ГК растворимой фракции сердечной мышцы было обнаружено увеличение содержания GK_3 .

При изучении механизмов действия нейрогормона С на сердце и другие органы нами ранее было показано увеличение содержания лактата и изменение активности фосфорилазы, свидетельствовавшие о том, что нейрогормон С интенсивно усиливает гликолитический путь расщепления гликогена и глюкозы [1—3].

Мы задались целью изучить активность, а также изоэнзимный спектр гексокиназы под влиянием нейрогормона С у кроликов в сердечной, гладкой, медленно сокращающейся красной и быстро сокращающейся белой скелетных мышцах.

Материал и методика. Опыты ставили на кроликах обоего пола массой 2,5—3 кг. Нейрогормон С вводили наркотизированным гексеналом животным внутривенно (V. Femoralis) в дозе 3—4 единиц на животное. За единицу активности нейрогормона С принимали активность препарата, ингибирующего 1 миллиединицу 3,5 цикло-АМФ фосфодиэстеразы гомогената мозга крыс в минуту. Контрольные животные получали физиологический раствор. Животных декалцитировали через 30 мин после введения нейрогормона, затем брали исследуемые органы. Активность ГК измеряли в сердечных мышцах, мышцах пилорической части желудка, а также в медленно сокращающейся красной и быстро сокращающейся белой скелетных мышцах кроликов. Гомогенат из мышц готовили на 0,15 М KCl в разведении 1:5. Для этого скелетные мышцы очищали от сухожилий и фасций, ткань измельчали ножницами и растирали в ступке с кварцевым песком. Желудок освобождали от содержимого, тщательно промывали охлажденной дистиллированной водой, удаляли слизистую оболочку, и ткань растирали в ступке с кварцевым песком. Гомогенат центрифугировали в течение 45 мин при 12000 g. полученный супернатант использовали непосредственно в опытах. Все процедуры по получению растворимой фракции выполняли на холоду при 4°. Активность ГК измеряли на спектрофотометре при $\lambda=340$ нм по восстановлению НАДФ, и выражали в микромолях НАДФ на 1 мг белка/час [14]. Инкубационная среда для измерения активности ГК содержала (в М): трис-HCl буфер (pH 8,0)—0,01; $MgCl_2$ —0,005; АТФ—0,005; НАДФ—0,0005; глюкозу—0,055; дегидрогеназу Г-6-Ф—0,2 ме. В измеряемых пробах определяли количество белка [15].

Для определения изоферментного состава ГК в сердечной мышце использовали диск-электрофорез в 7,5%-ном полиакриламидном геле в течение 2,5 час. [9]. Локализацию изоферментов ГК выявляли инкубированием в термостате при 37° в течение 1 часа в смеси, содержащей: трис-НСl—буфер (рН 8,0)—0,01 М—10, MgCl₂—0,06 М—4,5 мл; АТФ—60; ТПН—9, феназинметасульфат—4; нитросиний тетразол—9, глюкоза—300, Na₂S—1 мг; вода бидистиллированная—3,5 мл. ТПН и АТФ добавляли непосредственно перед окраской. После просветления фореграмм смесью метанол—уксусная кислота—вода (5:1:5) проводили денситометрию на регистрирующем спектрофотометре «Specord» с дополнительной приставкой для измерения гелей «ГЕ.Л» [7].

Результаты и обсуждение. Результаты исследований показали, что однократная инъекция животным нейрогормона С приводит к заметным изменениям в активности ГК (табл. 1).

Таблица 1

Активность гексокиназы в сердечной, гладкой, белой и красной мышцах кролика в норме и после введения нейрогормона С, мкмоль НАДФ/мг белка/час (средние данные 7 опытов)

Исследуемые ткани	Мышцы			
	сердечная	гладкая	белая	красная
Контроль	0,386±0,006	0,367±0,012	0,069±0,011	0,369±0,008
Опыт	0,498±0,005 p < 0,001	0,311±0,008 p < 0,001	0,056±0,018 p > 0,5	0,309±0,050 p < 0,001

Как видно из полученных данных, после внутривенного введения нейрогормона С, активность гексокиназы в гладких, белых и красных мышцах несколько снижается. Своеобразные сдвиги наблюдаются в сердечной мышце: активность гексокиназы через 30 мин резко повышается, составляя 0,498±0,005 мкмоль НАДФ на мг белка/час.

При электрофоретическом анализе ГК растворимой фракции сердечной мышцы были получены следующие результаты: в гомогенатах сердечной мышцы кролика выявляются три изофермента ГК—ГК₁, ГК₂, ГК₃, причем содержание ГК₃ по сравнению с ГК₁ и ГК₂ выше (табл. 2).

Таблица 2

Процентное соотношение изоферментов гексокиназы в сердечной мышце кролика после внутривенного введения нейрогормона С

	Контроль	Опыт	Р
ГК ₁	26,87±1,66	—	0,001
ГК ₂	26,50±1,41	35,83±5,22	0,1
ГК ₃	46,63±1,37	64,17±5,22	0,001

Многочисленные опыты показали, что через 30 мин после внутривенного введения нейрогормона С содержание ГК₁ резко снижается (следовые количества), ГК₃ возрастает в 1,4, а ГК₂—в 1,3 раза.

По-видимому, содержание $ГК_3$ и $ГК_2$ в сердечной мышце кролика после введения нейрогормона увеличивается за счет изменения $ГК_1$.

Нам кажется, что энергетический обмен сердца регулируется не только местными факторами, но и нейрогормональным путем. Все больше появляется работ, указывающих на взаимообусловленность изоферментного спектра и специфики энергетического обмена клетки [8]. Центральную нейрогуморальную регуляцию гликолиза можно считать вероятной, если учесть наличие ряда работ о значении гормонов в регуляции изоферментного спектра гликолитических ферментов [6].

Таким образом, в наших экспериментах наблюдаются весьма существенные изменения в содержании изоферментов $ГК_1$, $ГК_2$ и $ГК_3$ в сердечной мышце. Имеется ряд данных о постоянстве содержания изоферментов гексокиназы в некоторых тканях [11, 12], тогда как в печени и жировой ткани изоферментный спектр меняется. В печени число изоферментов в зависимости от вида животных колеблется в пределах 3—5 [10].

Существование изоферментов можно рассматривать как эволюционное приспособление к тончайшему регулированию процессов обмена веществ. В качестве примера можно указать на почти полное исчезновение $ГК_2$ при инсулярной недостаточности и восстановление ее активности под воздействием инсулина [4, 5, 13].

Результаты наших исследований свидетельствует о том, что под влиянием нейрогормона C происходят увеличение общей активности гексокиназы сердца и характерные сдвиги в изоферментном составе в сторону увеличения содержания изоферментов $ГК_3$, что, по-видимому, способствует усилению гликолиза в сердечной мышце.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 6.VII 1978 г.

**ՀԵՔՍՈՎԻՆԱԶԱ ՖԵՐՄԵՆՏԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԻԶՈՖԵՐՄԵՆՏԱՅԻՆ
ԿԱԶՄՈՒԹՅԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆԸ ՍՐՏՈՒՄ ԵՎ ԱՅԼ ՄԿԱՆՆԵՐՈՒՄ
ՆՅՅՐՈՀՈՐՄՈՆ C-Ի ԱԶԳԵՑՈՒԹՅԱՆ ՆԵՐՔՈ**

Ս. Ս. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ, Լ. Ա. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է հեքսոկինազա ֆերմենտի և վերջինիս իզոֆերմենտների կազմության որոշումը սրտամկանում, ինչպես նաև հարթ, կարմիր և սպիտակ (կմախքային) մկաններում՝ ճազարների մոտ:

Հետազոտություններից պարզվել է, որ նեյրոհորմոն C -ի ազդեցության ներքո հեքսոկինազա ֆերմենտի ակտիվությունը կտրուկ կերպով ավելանում է սրտամկանում, իսկ հարթ, սպիտակ և կարմիր մկաններում զգալի չափով իջնում է: Հեքսոկինազա ֆերմենտի իզոֆերմենտային կազմության որոշման ժամանակ պարզվեց, որ նեյրոհորմոն C -ի ազդեցությամբ հեքսոկինազա $ՀԿ_3$ -ի քանակը զգալի չափով ավելանում է:

Հետազոտության արդյունքները ցույց տվեցին, որ նեյրոհորմոն C -ի ազդեցության ներքո տեղի է ունենում հեքսոկինազա ֆերմենտի ընդհանուր ակտիվության զգալի բարձրացում սրտամկանում, իսկ իզոֆերմենտային կազ-

մում տեղի է ունենում բնորոշ փոփոխություն դեպի ZH_3 -ի քանակը, որը, ըստ երևույթին, նպաստում է գլիկոլիզի արագացմանը սրտամկանում:

EFFECT OF NEUROHORMONE "C" ON THE ACTIVITY OF HEXOKYNASE AND ITS ISOENZYME COMPOSITION IN RABBIT HEART AND OTHER MUSCLES

S. S. ALEXANIAN, L. A. KARAPETIAN

The effect of neurohormone "C" on hexokynase (HK) total activity and isoenzyme spectrum in rabbit heart, smooth, slowly contracting red and rapidly contracting white skeletal muscles has been studied. Data obtained indicate that neurohormone "C" injection results in the increase of HK activity. The electrophoretic analyses of heart muscle soluble fraction has revealed increase of HK_3 content.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алексанян С. С., Галоян А. А. Биолог. ж. Армении, 30, 2, 1977.
2. Галоян А. А., Алексанян С. С. ДАН АрмССР, 58, 3, 1974.
3. Галоян А. А., Алексанян С. С., Абеян Ж. Г., Бархударян Н. А. ДАН АрмССР, 60, 2, 1975.
4. Ильин В. С., Титова Г. В. Биохимия, 28, 6, 987, 1963.
5. Ильин В. С., Титова Г. В. ДАН СССР, 141, 1, 227, 1961.
6. Ильин В. С., Усстенко Н. С. Биохимия, 37, 1, 127, 1972.
7. Мовсесян Н. О., Хумарян Н. Г., Мовсесян С. Г. Лабораторное дело, 7, 445, 1976.
8. Cahn R. D., Kaplan N. O. Science, 136, 962, 1962.
9. Harrison A. P. Anal. Biochem, 61, 2, 500, 1974.
10. Howard M. Katzen Biochem. Bioph. res. comm., 19, 3, 337, 1965.
11. Katzen H. M. Advance in enzyme regulation, 5, 335, 1967.
12. Katzen H. M., Schimke R. T. Proc. Natl. Acad. Sc. USA, 54, 1218, 1965.
13. Katzen H. M. et al. Ann. N. J. Acad. Sci., 151, 351, 1968.
14. Long G. Biochem. J., 50, 5, 407, 1951.
15. Ruth P. Anal. Biochem., 9, 401, 4, 1964.