

БИОХИМИЯ

А. А. Галоян

О наличии специфического белка с коронарорасширяющим свойством в гипоталамусе

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятыном 9/1 1964)

В течение последних лет нам удалось из гипоталамо-нейрогипофизарной системы млекопитающих выделить биологически активные вещества, оказывающие избирательное влияние на коронарное кровообращение (1, 2, 3). Одна из выделенных фракций суживает, а другие, наоборот, оказывают характерное коронарорасширяющее влияние. Кровяное давление под влиянием этих фракций не подвергается заметным изменениям. Коронарорасширяющее влияние продолжается несколько часов (3—4 и больше). При этом количество крови, оттекающей из венозных сосудов сердца в 2—3 раза увеличивается. Эффект наступает при введении весьма малых количеств веществ. Коронаросуживающее влияние продолжается 25—30 минут. Важно то, что коронароактивные вещества подвергаются изменениям под влиянием нейрогуморальных агентов и, в частности, под влиянием гистамина (4). В условиях дегидратации (введением 2,5—5% NaCl), когда нейросекреторные гранулы в гипоталамо-нейрогипофизарной системе резко уменьшаются, почти не удается обнаруживать коронароактивные вещества. Эти данные дали основание полагать, что выделенные нами вещества являются нейрогормонами, по-видимому, полипептидной природы, имеющими важное физиологическое значение.

Многочисленные опыты, проведенные методом бумажной хроматографии ясно показали полипептидный характер выделенных активных начал. Наши опыты с отдельным гидролизом этих двух фракций выявили наличие 7—10 аминокислот в составе этих полипептидов.

После окончательного решения полипептидного характера коронарорасширяющих активных начал важно было выяснить: существуют ли эти полипептиды отдельно или они связаны с каким-то специфическим белком типа белка Ван Дейка. Учитывая то обстоятельство, что биологически активные начала были выделены экстракцией из гипоталамо-нейрогипофизарной системы разбавленными растворами уксусной кислоты при pH—3—4, а также то, что после экстракции

водой или физиологическим раствором не удается выделить эти полипептиды бумажной хроматографией, мы полагаем следующее:

1) коронароактивные полипептиды при экстрагировании разбавленным раствором уксусной кислоты отщепляются от какого-то белка, с которыми они связаны непрочной связью;

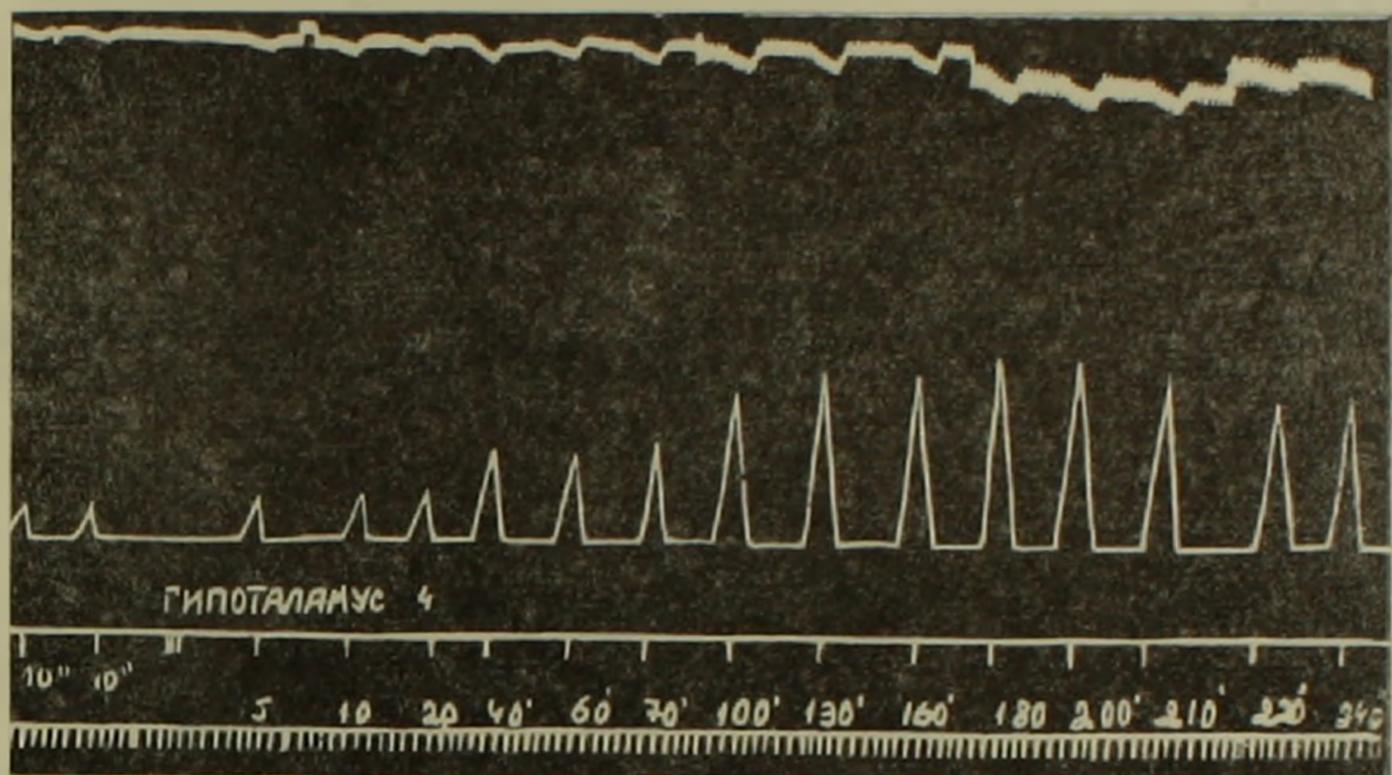
2) имеется определенный белок, по всей вероятности водорастворимый, который при обработке с разведенными растворами уксусной кислоты не выделяется или не выявляется методом бумажной хроматографии.

Целью настоящего исследования было выделить водорастворимые белки из гипоталамуса, имеющие избирательное влияние на коронарное кровообращение.

Быстро извлекали мозг свиньи, отделяли гипоталамическую часть, тщательно удаляли твердую мозговую оболочку, кровяные сосуды, промывали холодной дистиллированной водой 2—3 раза и готовили водный гомогенат (1:2). Центрифугировали со скоростью 8000 об.мин. в течение 25—30 минут. В надосадочной жидкости (прозрачной) осаждали белки сернокислым аммонием. Для фракционирования растворимых белков раствор насыщали сернокислым аммонием следующим образом: I насыщение—7,5 г на 100 мл. После осаждения белка отделяли первую фракцию центрифугированием, а на надосадочной жидкости добавляли сернокислый аммоний из расчета 15 г на 100 мл. Получили вторую белковую фракцию. Увеличивая каждый раз концентрацию сернокислого аммония получали растворы от I—V насыщения и соответственно пять белковых фракций. Белковые фракции хорошо осаждаются после оставления в холодильнике в течение нескольких часов. Белковые фракции растворяли в миналовом буфере (рН—8,6) и диализировали против холодной дистиллированной воды в течение 24—48 часов для удаления сернокислого аммония. После диализа оставшиеся в диализированных мешках белковые растворы высушивали путем лиофилизации. Как известно, лиофилизация является процедурой, не вызывающей денатурации белка. То обстоятельство, что коронарорасширяющие полипептиды не подвергаются диализу, свидетельствует о том, что эти полипептиды связаны с определенным белком.

Опыты показали, что четвертая белковая фракция хорошо растворяется в воде и после введения внутривенно кошкам (0,1—1 мг) полностью воспроизводит эффект коронарорасширяющего влияния выделенных фракций. При введении этого белка коронарные сосуды постепенно расширяются и через 30 минут количество крови, оттекающей из венозных сосудов сердца, достигает 200—300% и больше (фиг. 1). Эффект продолжается 3—4 и более часов. Характерно то, что за весь период опытов кровяное давление почти не изменяется. Это говорит о том, что не только активные полипептиды, но и белок-носитель также не оказывает влияния на системное кровяное давление.

Полученные данные показывают, что путем экстракции и осаждения сернистым аммонием из гипоталамуса можно выделить белок (специфический), оказывающий характерное коронарорасширяющее влияние. Ставится вопрос выяснить, какими связями (химическими или электростатическими) полипептидные гормоны связаны со специ-



Фиг. 1

ческим белком. Тот факт, что именно одна белковая фракция имеет гормональную активность, а также то, что именно из экстрактов гипоталамуса удается выделить белок со специфическим коронарорасширяющим свойством, дает нам основание считать этот белок специфическим в отношении коронароактивных гормонов.

Описанным нами методом пока не удается выделить белок-носитель, обладающий коронаросуживающим влиянием. Не исключена возможность, что данная фракция может выйти из полупроницаемой мембраны при диализе. Опыты в этом направлении продолжаются.

Выводы 1. Путем экстракции и осаждения сернистым аммонием из гипоталамуса свиньи выделен водорастворимый белок, обладающий коронарорасширяющим влиянием. Данный белок является специфическим в отношении коронарорасширяющих полипептидов.

2. Можно полагать, что коронарорасширяющие полипептиды непрочны связаны со специфическим белком, от которого они отщепляются при обработке разведенными растворами уксусной кислоты при pH—3—4 и выявляются методом бумажной хроматографии.

Ա. Ա. ԳԱԼՈՅԱՆ

Պատկան անոթները լայնացնող սպեցիֆիկ սպիտակուցի առկայության մասին հիպոթալամուսում

Մեր նախորդ հետազոտություններում ցույց էր տրված, որ հիպոթալամո-նեյրոհիպոֆիզար սխտեմում գոյություն ունեն պոլիպեպտիդային բնույթի նյութեր, որոնք սպե-

ցիֆիկ ազդեցութիւն ունեն պսակաձև անոթների վրա: Հարց էր ծագում պարզելու կապ ունեն արդյոք այդ պոլիպեպտիդները ուղեղի որևէ սպիտակուցի հետ:

Սույն հետազոտութիւններում մեզ հաջողվել է պարզել, որ պսակաձև անոթները լայնացնող պոլիպեպտիդները կապված են հիպոթալամուսի որոշակի սպիտակուցի հետ (սպեցիֆիկ), որին կարելի է նստեցնել ամոնիում սուլֆատով:

Այս սպիտակուցը չի թափանցում կիսաթափանցիկ թաղանթով և նրա ներերակային սրսկումից հետո պսակաձև անոթները աստիճանաբար լայնանում են, որը տեսում է մի քանի մամ:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՐՔՅՈՒՆ

¹ А. А. Галоян, ДАН АрмССР, XXXIV, № 3, 109 (1962). ² А. А. Галоян, Известия АН АрмССР (серия биолог. наук), т. XVI, № 4 (1963). ³ А. А. Галоян, Третья Всесоюзная конференция по биохимии нервной системы под ред. А. В. Палладина и Г. Х. Бунятыана. Изд. АН АрмССР, Ереван, 517, 1963