

А. А. Галоян и Ж. Г. Абелян

Водорастворимые белки нейрогипофиза

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятыном 13/VII 1965)

В настоящее время установлено, что нейрогипофиз животных и человека содержит в основном 2 гормона—вазопрессин и окситоцин. Эти гормоны являются полипептидами, состоящими из 9 аминокислот.

В 1941 году Ван Дейк (1) выделил из нейрогипофиза животных белок, который имел молекулярный вес 30 000. Установлено, что вазопрессин и окситоцин электростатическими силами адсорбированы на поверхности выделенного Ван Дейком белка и отделяются от него при различных воздействиях (2-3).

В 1961 году Шове, Ленси-Шове и Аше (4) из нейрогипофиза некоторых позвоночных животных выделили пептид, который по аминокислотному составу занимает промежуточное положение между окситоцином и аргинин-вазопрессином. Таким образом, из нейрогипофиза к настоящему времени выделены в основном вазопрессин, окситоцин и белок носитель этих полипептидов — белок Ван Дейка.

За последние годы одним из нас (5-7) из гипоталамо-нейрогипофизарной системы млекопитающих выделены новые биологически активные вещества полипептидно-белковой природы, оказывающие влияние на коронарные сосуды. Из гипоталамуса был выделен специфический белок с коронарорасширяющим влиянием. Учитывая то обстоятельство, что белок выделен из гипоталамуса, а коронароактивные пептиды из гипоталамуса и из нейрогипофиза, представлял интерес выяснить, имеется ли данный белок и в нейрогипофизе. Более того, было интересно также выяснить состав водорастворимых белков нейрогипофиза.

В литературе почти полностью отсутствуют данные о белковом составе и, в частности, о водорастворимых белках нейрогипофиза. Для сравнения полученных нами данных по выделению водорастворимых белков одновременно мы проводили экстрагирование ацетонового порошка 0,01 N H₂SO₄ с последующим осаждением сернокислым аммонием, а также дистиллированной водой.

Опыты ставились на нейрогипофизе крупного рогатого скота и свиней. Нейрогипофиз тщательно очищали от крови и из него готовили водный гомогенат 1:2. Из приготовленного гомогената получали экстракт путем центрифугирования при 8000 об/мин. в течение 20 минут. Надоса-

дочную жидкость отделяли и проводили высаливание с помощью сернокислого аммония. Полученные фракции отделяли центрифугированием и растворяли в веронал-мединаловом буфере, рН—8,6. Белковые фракции диализировали против дистиллированной воды в течение 24 часов, а затем против веронал-мединалового буфера рН—8,6 до полного удаления сульфата аммония. После окончания диализа все растворы белков лиофилизировали.

10 г сухого ацетонового порошка свиной экстрагировали в 30 мл 0,01 N H_2SO_4 , рН которого доводили до 4,25 1 N раствором NaOH. Экстракция проводилась в холодильнике в течение 24 часов. Центрифугировали в течение 20 минут при 8000 об/мин. Надосадочную жидкость слили, а осадок подвергли реэкстракции в 150 мл 0,01 N H_2SO_4 в течение 24 часов в холодильнике. К надосадочным жидкостям (соломенно-желтого цвета, рН—5,5) добавляли сернокислый аммоний из расчета:

I насыщение	10 г соли на 100 мл надосадочной жидкости
II	» 15 г » » » »
III	» 20 г » » » »
IV	» 25 г » » » »

Получили 4 фракции, которые диализировали против дистиллированной воды, а затем и против веронал-мединалового буфера, рН—8,6 до полного удаления сульфата аммония. Растворы белков лиофилизировали. Экстрагирование ацетонового порошка производили дистиллированной водой таким же способом.

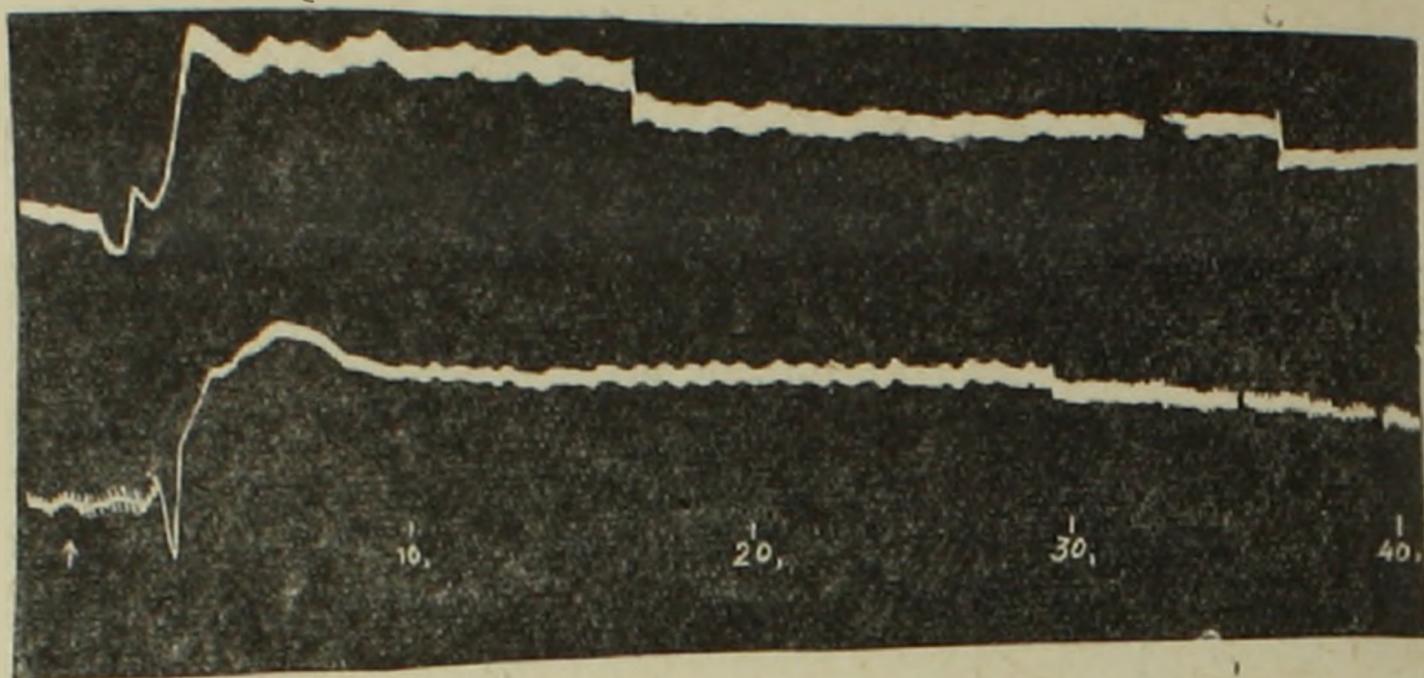
Нам удалось из свежего нейрогипофиза свиной и быков выделить 9—10 белковых фракций и получить их в лиофилизированном виде. Из ацетонового порошка после экстрагирования 0,01N H_2SO_4 удалось выделить четыре белковых фракции. Такое же количество фракций было получено путем экстракции ацетонового порошка дистиллированной водой. Получение 10 фракций из водного экстракта свежей ткани показало, что наши представления о белковом составе нейрогипофиза весьма скудны. Логично было выяснить, какая из них обладает вазопрессорным влиянием и какие обладают другими физиологическими свойствами.

Поэтому мы испытывали влияние выделенных нами фракций на кровяное давление кошки. После внутривенного введения кошкам фракции I и II из расчета 1,5—2 мг на 1 кг веса животного, мы наблюдали следующее: белковая фракция I через 2—3 минуты заметно повышает кровяное давление и продолжает оставаться повышенным в течение 40—60 минут, иногда больше и затем возвращается к первоначальному уровню (фиг. 1).

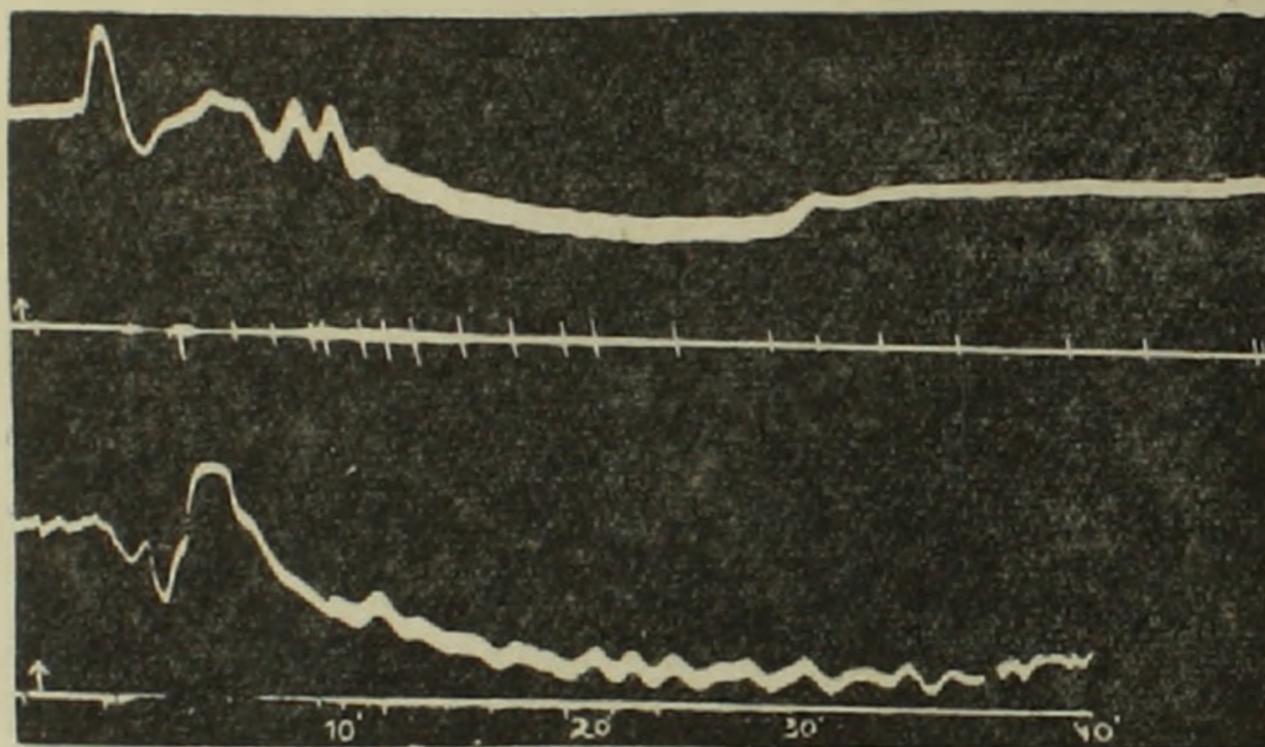
Как видно из этого рисунка наряду с повышением кровяного давления обнаруживается учащение и усиление сердечных сокращений, продолжающееся также до 40—60 минут.

После же введения фракции II (фиг. 2) кровяное давление сразу поднимается, дыхание на несколько секунд останавливается. Этот эффект продолжается 2—3 минуты и затем постепенно понижается. С понижением кровяного давления одновременно наблюдается улучшение

сердечного сокращения, усиление амплитуды этих сокращений. Резкое понижение кровяного давления наступает через 15—20 минут после введения фракции, после чего оно постепенно повышается и достигает нормального уровня через 30—40 минут после введения.



Фиг. 1. Изменение кровяного давления кошки после введения I белковой фракции.



Фиг. 2. Изменение кровяного давления кошки после введения II белковой фракции.

Таким образом, можно сказать, что белковая фракция I по своему влиянию на кровяное давление оказывает влияние противоположное влиянию фракции II. Эти данные уже говорят о том, что мы имеем дело с различными белковыми фракциями, активными в отношении кровяного давления. Создается впечатление, что выделенные белковые фракции антагонистически действуют на периферические сосуды. Эффект влияния фракции I похож на эффект влияния белка Ван Дейка, выделенного из ацетонового порошка 0,01N H_2SO_4 . Но в отличие от него данный белок оставляет повышенным кровяное давление не в течение 5—6 минут, как белок Ван Дейка, а в течение 30—40 минут. Причем в этом случае усиливаются сердечные сокращения и повышается амплитуда этих сокра-

шений, что не наблюдается под влиянием белка Ван Дейка. Нам кажется, что в первой фракции имеется белок Ван Дейка, по-видимому, связанный с другими веществами, которые удлиняют влияние, повышающее кровяное давление. Первый период влияния второй фракции также свидетельствует о том, что и эта фракция, по-видимому, является смесью веществ.

Полученные данные свидетельствуют о существовании многочисленных белков в нейрогипофизе. Результаты опытов по выделению белковых фракций из ацетонового порошка интересны тем, что способ экстракции составляя одним и тем же (0,01 N H₂SO₄) как и при выделении белка Ван Дейка, мы смогли рефракционировать с помощью сульфата аммония на 4 фракции.

Аналогичные данные нами получены при фракционировании ацетонового порошка с дистиллированной водой.

Предпринятые опыты по испытанию этих белковых фракций в отношении коронарного кровообращения, а также в ряде других функций организма выясняет ряд сторон функционального значения выделенных нами белков.

Выводы. 1. Из нейрогипофиза быка и свиней выделено 9—10 фракций водорастворимых белков.

2. Фракции I и II оказывают заметное влияние на кровяное давление животных. Фракция I заметно повышает, а фракция II—наоборот, понижает кровяное давление. Этот эффект продолжается около 40 минут.

3. Из ацетонового порошка нейрогипофиза экстракцией 0,01 N H₂SO₄ и дистиллированной водой и осаждением сернокислым аммонием выделили 4 белковых фракций.

4. Результаты наших опытов показывают, что в нейрогипофизе имеются не только белок Ван Дейка, но и ряд других неидентифицированных белков.

Ա. Ա. ԳԱՆՅԱՆ և Ժ. Գ. ԱՐԵՎՅԱՆ

Նեյրոհիպոֆիզի քրալուծ սպիտակուցները

Սույն հետազոտություններում խնդիր էր դրված պարզելու թե նեյրոհիպոֆիզում գոյություն ունեն արդյոք Վան-Դեյկի սպիտակուցից բացի ուրիշ սպիտակուցներ և ի՞նչ բիոլոգիական ակտիվությամբ են օժտված նրանք: Ուսումնասիրությունները պարզեցին, որ նեյրոհիպոֆիզում գոյություն ունեն 10 սպիտակուցային ֆրակցիաներ, որոնցից 2-ը խիստ ազդեցություն ունենալու ճնշման վրա: 1-ի ֆրակցիան բարձրացնում է, իսկ 2-ը ընդհակառակը իջեցնում է արյան ճնշումը:

Ստացված արդյունքները վկայում են, որ նեյրոհիպոֆիզում գոյություն ունեն բացի Վան-Դեյկի սպիտակուցից նաև այլ սպիտակուցներ, որոնց դիրքը պարզարանումը մոտակա մեր խնդիրներից պետք է հանդիսանա:

Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

¹ X. B. Ван-Дейк, J. Pharmacol. Exptl. Therap. 74, 190, 1942. ² E. Auer и др. Biochim. et Biophys. Acta, 22, 421, 1955. ³ P. Дж. Блок, Arch. Anat. Mikroskop. et Morphol. Exptl., 41, 25, 1952. ⁴ Шове, Ленци-Шове, Аше, V Международный биохимический конгресс, Рефераты секционных сообщений, 1, 574, 1961. ⁵ А. А. Галоян, ДАН АрмССР, 34, 2, 1962. ⁶ А. А. Галоян, Известия АН АрмССР, т. 16, № 1 (1963). ⁷ А. А. Галоян, Некоторые проблемы биохимии гипоталамической регуляции, 1965, Ереван, изд. Айастан.