

УДК 577.16/17

БИОХИМИЯ

Член-корреспондент АН Армянской ССР А. А. Галоян, Т. Х. Марукян

О наличии двух коронарорасширяющих веществ в митохондриях гипоталамуса

(Представлено 23/VI 1971)

В 1961 году нами были выделены бумажной хроматографией два коронарорасширяющих гормона из гипоталамо-нейрогипофизарной системы животных (1). В дальнейшем удалось разработать методы выделения этих гормонов колоночной хроматографией на сефадексах и ионообменниках (2-4). Изучены некоторые физико-химические свойства вышеуказанных гормонов, условно обозначенных веществами К и С. Они являются соединениями, содержащими аминокислоты и ультрафиолет-поглощающее вещество (5). Было показано, что эти вещества выделяются из мозга в кровь и в комбинации с белками крови транспортируются, по-видимому, к сердцу. Из района коронарных сосудов удалось экстрагировать коронарорасширяющее вещество, которое по своим физико-химическим и биологическим свойствам весьма сходно с веществом К. Все эти данные свидетельствуют о том, что в гипоталамусе (в нейросекреторных ядрах) вырабатываются особые гормоны, регулирующие сердечное кровообращение.

Как показали наши исследования, о гормональной природе этих веществ свидетельствует тот факт, что они цементируются в липопротеидном комплексе нейросекрета. Путем дифференциального центрифугирования гомогенатов гипоталамуса в градиенте плотности сахарозы выделили нейросекреторные гранулы, содержащие коронарорасширяющие вещества К и С. Представляет большой интерес выяснить место синтеза этих гормонов в нейронах гипоталамуса. Поэтому в настоящем исследовании мы задались целью изучить субклеточное распределение веществ К и С в гипоталамусе.

Субклеточные фракции получали методом дифференциального центрифугирования гомогената. Гипоталамусы крупного рогатого скота и крыс гомогенизировали с 9 объемами 0,25 М раствора сахарозы. Все этапы фракционирования производили на холоду (0°—4°). Ядерную фракцию получали центрифугированием гомогената при 1300×g в течение

10 мин. Митохондриальную фракцию осаждали при 18–20000Xg в течение 20 мин. Чистоту митохондриальной фракции проверяли фазо-контрастным микроскопом.

Отдельные субклеточные фракции гомогенизировали стеклянным гомогенизатором в растворе 0,25% уксусной кислоты с температурной обработкой (80°–90°) в течение 20 мин. Полученный экстракт центрифуги-

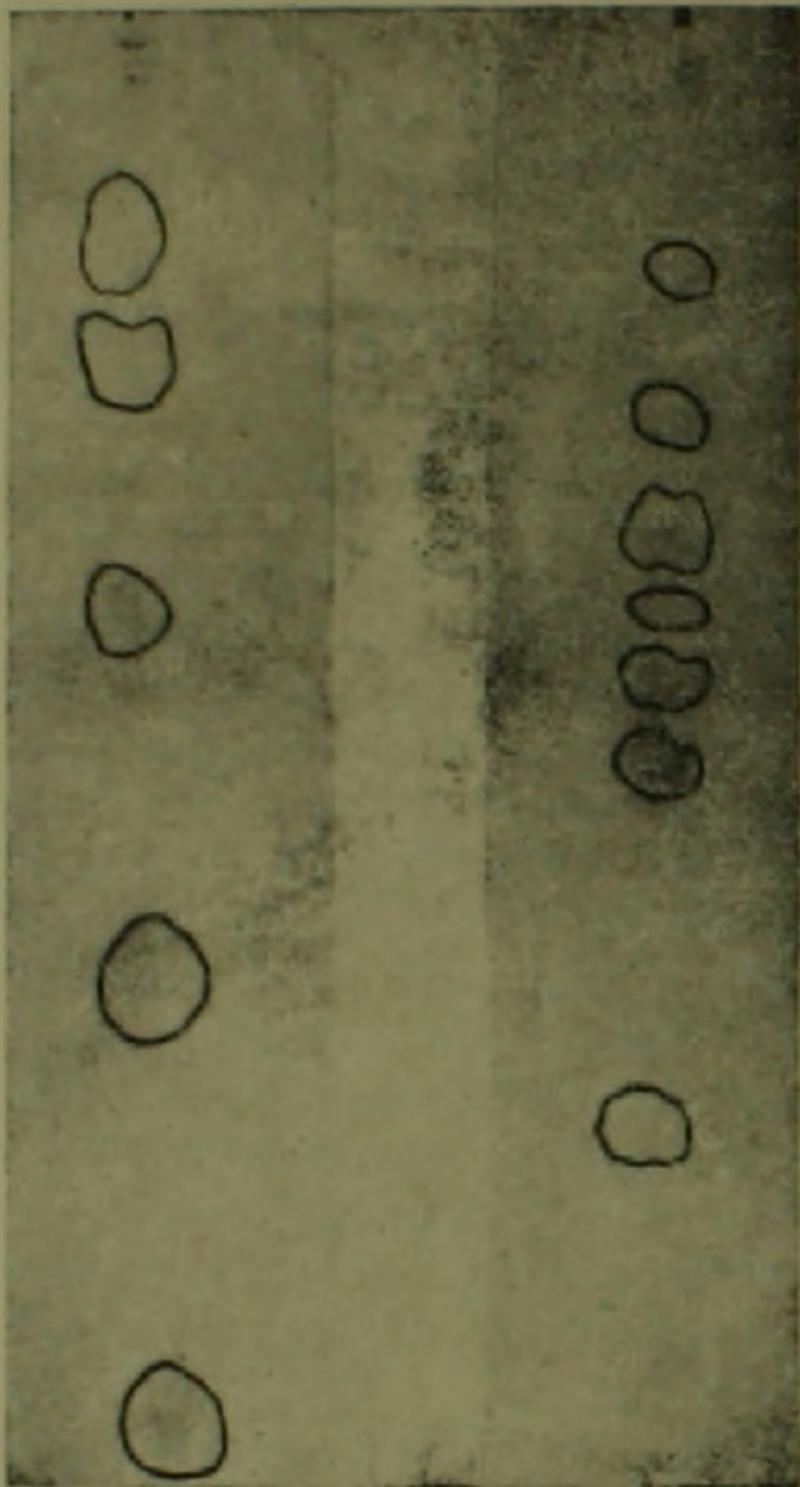


Рис. 1. Хроматограмма различных фракций, выделенных из митохондрий гипоталамуса. 1 – крупный рогатый скот, 2 – крыса

гировали при 5000 об./мин в течение 20 мин. Разделение веществ производили распределительной нисходящей хроматографией на бумаге FN-11 в системе растворителей бутанол–уксусная кислота–вода (4:1:5). Коронарный отток измеряли по методу Моравитца и Цана в модификации Н. В. Кавериной⁽⁶⁾, принцип которого состоит в измерении количества крови, оттекающей из коронарного синуса за единицу времени.

На рис. 1 показано хроматографическое разделение веществ из митохондриальной фракции гипоталамуса. Экстракцией 0,25%-ой уксусной

кислотой и бумажной хроматографией удается выделить 5—7 нингидрин-положительных фракций. Нетрудно заметить, что 3, 5, 6, 7 фракции митохондрий крыс отсутствуют в митохондриях крупного рогатого скота, а в митохондриях крупного рогатого скота имеются две фракции—4, 5, которые отсутствуют в митохондриях крыс. Это свидетельствует, по-видимому, о некоторой специфичности химизма митохондрий различных животных.

Были испытаны отдельно элюаты (физиологическим раствором) всех хроматографических фракций на коронарное кровообращение, которые вводили кошкам внутривенно и измеряли количество крови, оттекающей из коронарного синуса за единицу времени. опыты показали, что в митохондриях крыс и крупного рогатого скота обнаруживаются две активности, коэффициенты распределения которых соответствуют коэффициентам распределения веществ *K* и *C* (0,35 и 0,15 соответственно).

Таблица 2
Увеличение количества крови, оттекающей из венозных сосудов сердца за единицу времени после введения фракций, выделенных из митохондрий гипоталамуса, %

Фракция 1 (Rf 0,15)	Фракция 2 (Rf 0,35)
64	80
37	27
133	50
83	80
60	120
100	
127	
86,6±1,1	71,4±1,9

В табл. 2 приведены данные увеличения количества крови, оттекающей из венозных сосудов сердца за единицу времени после внутривенного введения кошкам соответствующих фракций. Обе фракции статистически достоверно увеличивают (86,6% ± 1,4 и 71,4% ± 1,9) отток крови, оттекающей из венозных синусов сердца по отношению к норме. Эффект продолжается более 2-х часов и за весь период эксперимента не наблюдается заметных изменений кровяного давления.

Хроматографические фракции с такими же коэффициентами распределения, выделенные из ядерной фракции гипоталамуса не обладали коронарорасширяющей активностью.

Эти предварительные данные свидетельствуют о наличии в митохондриях двух коронарорасширяющих соединений, которые, по-видимому, являются веществами *K* и *C*, выделенными из гипоталамуса различных

животных. Вероятно, митохондрии являются местом синтеза указанных веществ.

Задача дальнейших исследований—выяснение физико-химических свойств коронароактивных соединений, выделенных из митохондрий и установление их полной идентификации с веществами К и С соответственно.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

Հայկական ՍՍՀ ԳԱ ԲԳՐԱԿԻԳ-անդամ Ա. Ա. ԳԱԼՈՅԱՆ, Թ. Խ. ՄԱՐՈՒԲՅԱՆ

Հիպոթալամուսի միտոխոնդրիաներում սրտի պսակաձև անոթները լայնացնող երկու նյութերի առկայության մասին

Նախորդ հետազոտություններում նշված է հիպոթալամո-նեյրոհիպոֆիզար համակարգությունից սրտի պսակաձև անոթների վրա ներգործող երկու նեյրոհորմոնների անջատման մասին: Պարզվել է, որ նրանք գտնվում են հիպոթալամուսի նեյրոսեկրետոր գրանուլաների կազմում:

Սույն հետազոտությամբ խնդիր էր դրված պարզելու նշված նեյրոհորմոնների առաջացման տեղը ենթաբջջային մասնիկներում: Հետազոտությունները ցույց տվեցին, որ հիպոթալամուսի միտոքոնդրիալ ֆրակցիայում առկա են երկու նյութեր, որոնք ունեն սրտի պսակաձև անոթները լայնացնելու հատկություն և թղթային բրոմատոգրաֆիայի եղանակով անջատելիս ունեն տեղաբաշխման նույն գործակիցը, ինչոր վերը նշված նյութերը: Կորիզային ֆրակցիայում այդ նյութերը բացակայում են:

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

¹ А. А. Галоян, ДАН Арм. ССР, т. 34, № 3, 109 (1962). ² А. А. Галоян, Вопросы биохимии мозга, т. 3, 291, 1967. ³ А. А. Галоян, Р. А. Захарян, Дж. К. Демирчян, ДАН Арм. ССР, т. 52, № 2, 106 (1971). ⁴ Р. А. Захарян, Дж. К. Демирчян, А. А. Галоян, «Биологический журнал Армении», т. 24, № 4, 85 (1971). ⁵ А. А. Галоян, ДАН Арм. ССР, т. 48, № 5, 284 (1969). ⁶ Н. В. Каверина, Фармакология и токсикология, 1, 39, 1958.