

материалом для биосинтеза пентоз, что может быть подтверждением существования тесной взаимосвязи между пентозным циклом и гликолизом.

Сравнивая интенсивность образования пентоз из приведенных выше субстратов, можно предположить, что неокислительный путь образования пентоз преобладает над окислительным.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ КИНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФОСФОГЛЮКОМУТАЗНОЙ И ФОСФОГЕКСОИЗОМЕРАЗНОЙ РЕАКЦИЙ В ЯИЧНИКАХ СВИНЕЙ И КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

ГИДРАНОВИЧ В. И., ШЕДЬКО А. П.

Определение активности фосфоглюкомутазы и фосфогексоизомеразы широко используется при изучении углеводного обмена как в норме, так и при патологии (М. Орловски, 1966).

Активность ферментов изучают в так называемых стандартных условиях и они, как правило, разработаны для определения ферментативной активности крови лабораторных животных и человека. На особенности течения фосфоглюкомутазной и фосфогексоизомеразной реакций в эритроцитах и сердечной мышце сельскохозяйственных животных указывают И. Д. Головацкий (1962), И. Д. Головацкий, Я. М. Климкив, А. И. Колотницкий (1970), И. Н. Вовк, Б. А. Павлив (1965), А. И. Колотницкий (1971). Что касается ткани яичников сельскохозяйственных животных, то таких данных в литературе мы не встречали.

Целью наших исследований было изучить кинетические параметры фосфоглюкомутазы и фосфогексоизомеразы яичников свиней и телок. Для решения поставленной задачи исследовали превращения глюкозо-1-фосфата (Г-1-Ф) и глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф) во фруктозо-6-фосфат (Ф-6-Ф) гомогенатами яичников в зависимости от времени инкубации и концентрации субстрата. Об активности фосфоглюкомутазы и фосфогек-

соизомеразы судили по интенсивности образования фруктозо-6-фосфата из Г-1-Ф и Г-6-Ф соответственно. Фруктозо-6-фосфат определяли по методу Кулька (1956). Данные превращений Г-1-Ф в Ф-6-Ф гомогенатами яичников свиней и телок представлены на рисунке 1 (а и б). Из приведенных результатов видно, что Г-1-Ф довольно интенсивно превращается гомогенатами яичников в суммарной фосфоглюкомутазно-изомеразной реакции. Интенсивность фосфоглюкомутазно-изомеразной реакции зависит от концентрации субстрата и времени инкубации. Однако эта зависимость по-разному проявляется в яичниках свиней и телок. Так, в яичниках свиней реакция образования Ф-6-Ф протекает по типу реакций нулевого порядка до 10 минут: Ф-6-Ф образуется в количестве, пропорциональном времени инкубации. В яичниках же телок прямолинейное увеличение содержания Ф-6-Ф в зависимости от времени инкубации при всех концентрациях субстрата сохраняется до 15 минут. Замедление скорости реакции в яичниках свиней после 10 минут и телок после 15 минут инкубации связано, очевидно, с установлением динамического равновесия между компонентами реакции Г-1-Ф, Г-6-Ф и Ф-6-Ф.

Начальные скорости на участке прямолинейного превращения Г-1-Ф гомогенатами яичников свиней при концентрациях субстрата 1, 2, 4, 8, 12 и 16 *ммоль* составляют соответственно 0,25; 0,42; 0,59; 0,81; 0,98; 1,20 *мкмоль* на 100 *мг* белка за минуту.

В яичниках телок при низких концентрациях субстрата (1, 2, 4 *ммоль*) Г-1-Ф превращается со скоростью 0,28; 0,53; 0,81 *мкмоль* за минуту на 100 *мг* белка, что несколько выше, чем в яичниках свиней, однако при концентрациях Г-1-Ф 8, 12 и 16 *ммоль* образование Ф-6-Ф протекает в яичниках телок значительно интенсивнее и достигает скорости соответственно 1,59; 1,95; 2,10 *мкмоль* на 100 *мг* белка за минуту.

На рисунке 2 представлен график зависимости начальной скорости реакции от концентрации субстрата. Из графика видно, что с увеличением концентрации Г-1-Ф скорость реакции увеличивается пропорционально увеличению концентрации субстрата в яичниках свиней только до 4 *ммоль*, в яичниках телок — до 8 *ммоль*. Эти данные указывают на то, что константа

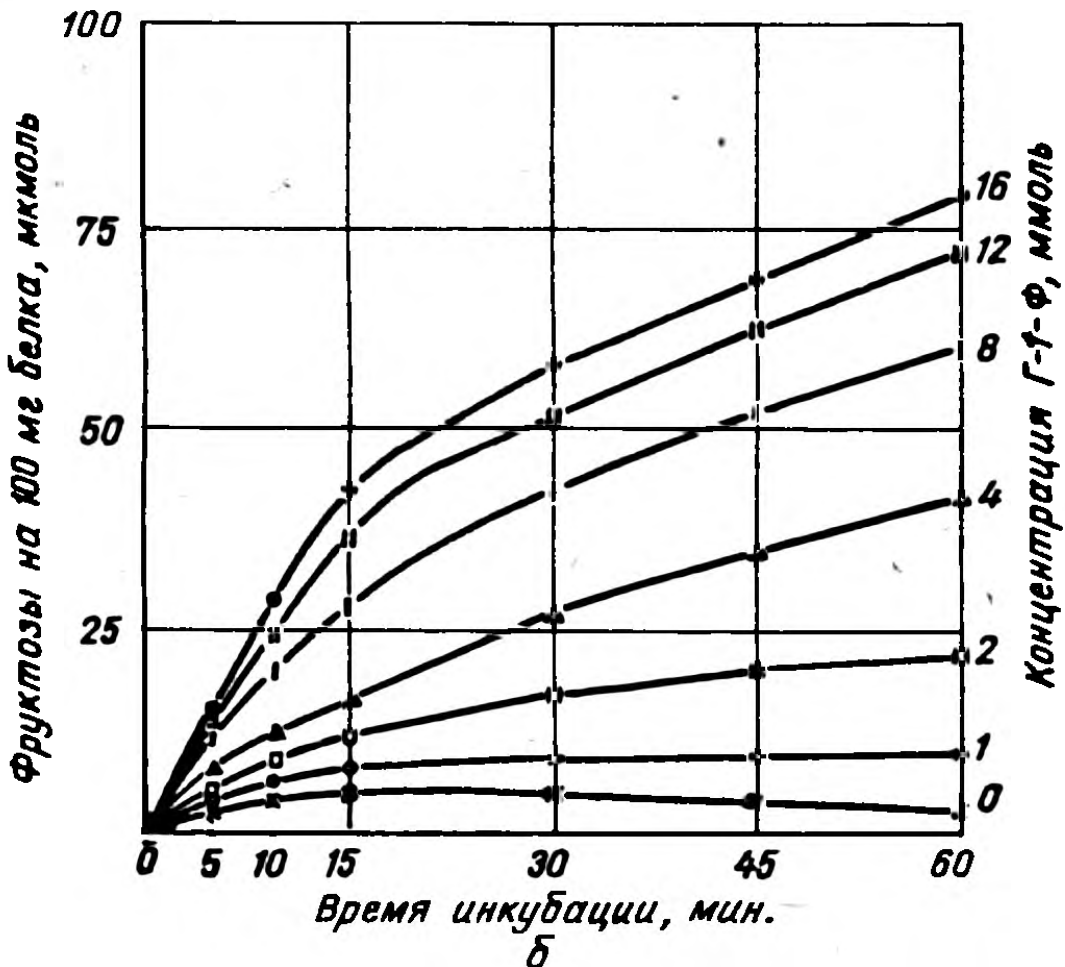
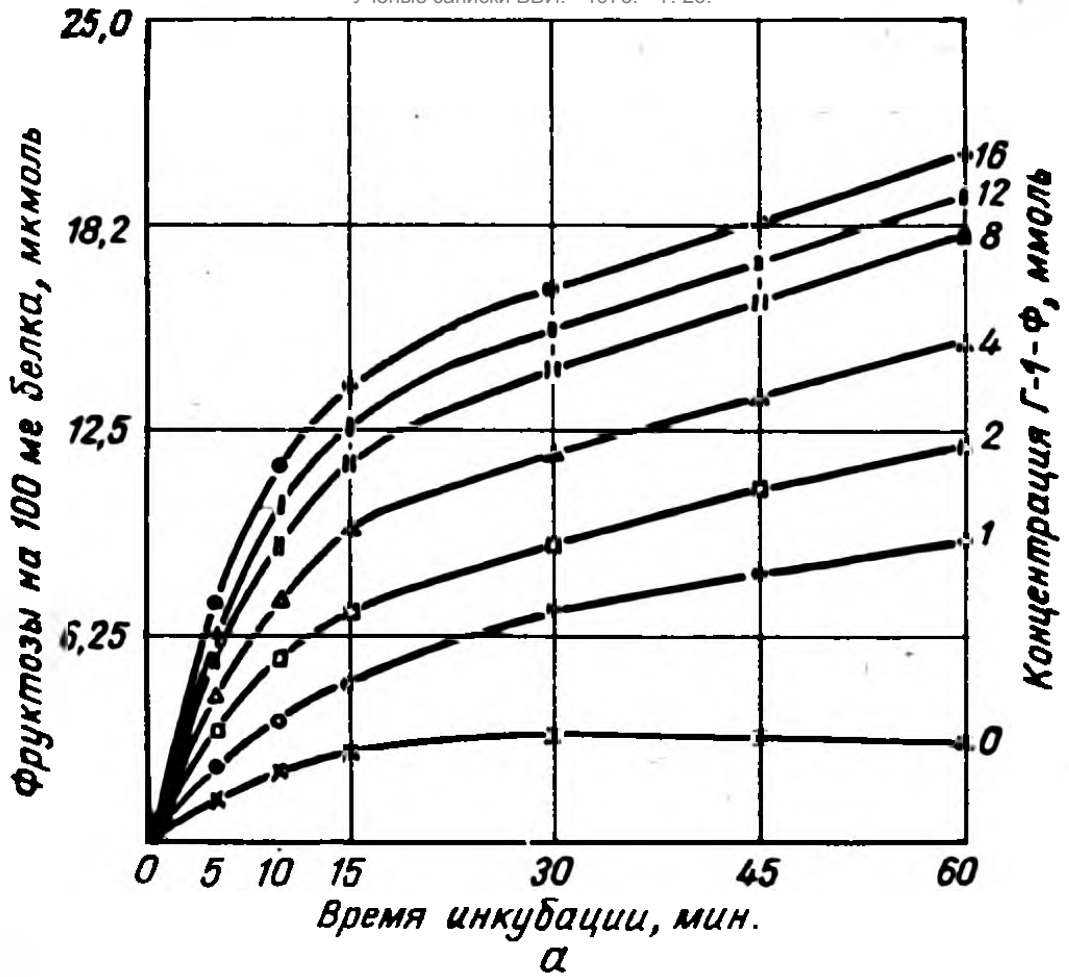


Рис. 1. Превращение Γ -1-Ф в фосфогексоизомеразной реакции гомогенатами яичников:
а — свиней; б — телок.

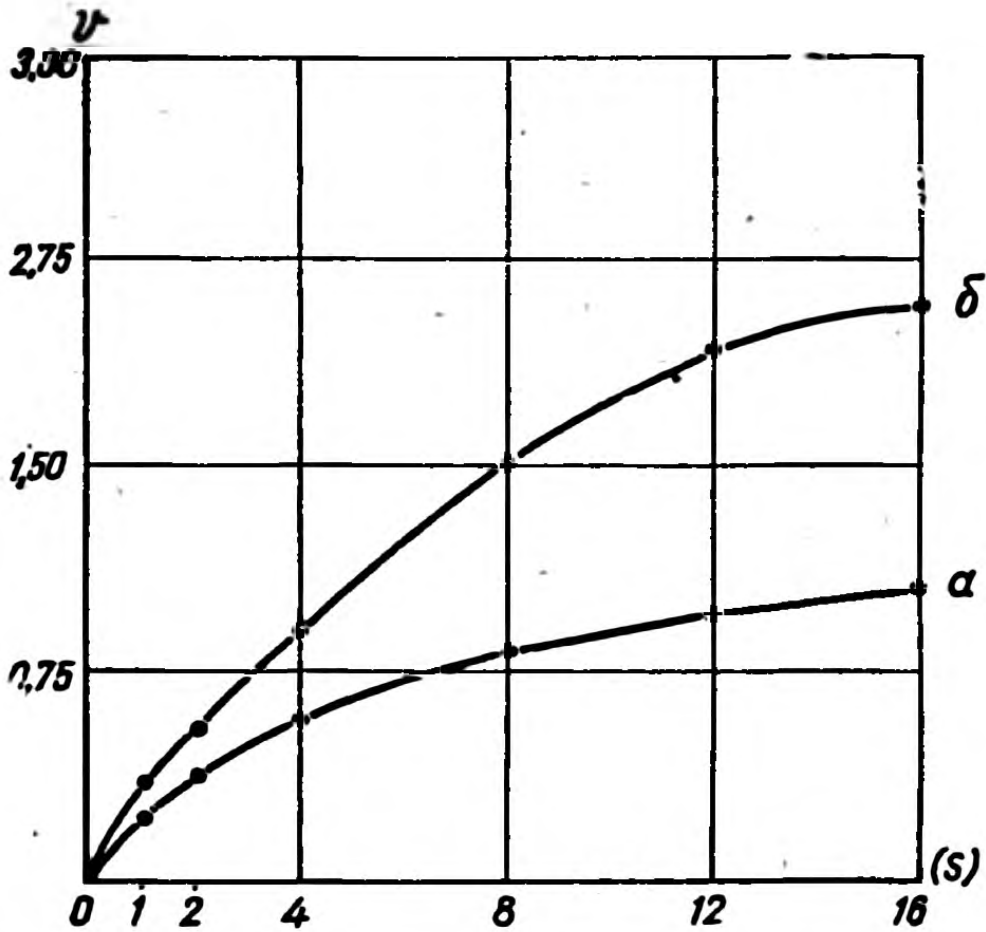


Рис. 2. Зависимость начальной скорости фосфоглюкомутазно-изомеразной реакции от концентрации субстрата в яичниках:
 а — свиной; б — телок.

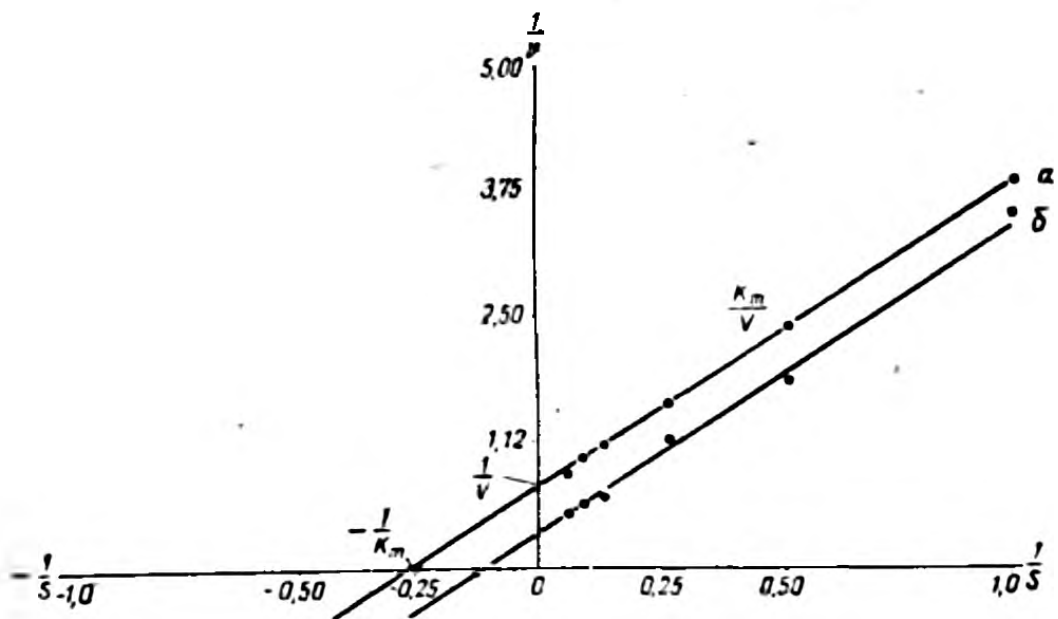


Рис. 3. Зависимость скорости фосфоглюкомутазно-изомеразной реакции яичников от концентрации субстрата:
 а — у свиной; б — у телок.

Михаэлиса находится в пределах данных концентраций субстрата.

Для определения константы Михаэлиса (K_m) и максимальной скорости реакции (v_m) пользовались графическим методом обратных величин Лайнуивера—Берка (рис. 3). Максимальная скорость для мутазно-изомеразной реакции яичников свиней и телок равна соответственно 1,25 и 3,15 $\mu\text{моль}$ на 100 мг белка за минуту. Данному значению максимальной скорости соответствует следующее значение константы Михаэлиса: для яичников свиней $4 \cdot 10^{-3}$ M , телок — $8,3 \cdot 10^{-3}$ M .

Об активности фосфоглюкомутазно-изомеразной реакции в яичниках судили не только по образованию Φ -6- Φ , но также по изменению содержания Γ -1- Φ и по образованию Γ -6- Φ . Γ -1- Φ определяли по кислотолабильному фосфору (V. Najjar, 1948), Γ -6- Φ — спектрофотометрически по восстановленному никотинамидадениннуклеотидфосфату с использованием кристаллического препарата глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (H. I. Nohorst, 1962).

На основании этих данных мы проследили, как изменяется соотношение между компонентами фосфоглюкомутазно-изомеразной реакции в яичниках, вычислив коэффициенты соотношений между $\frac{\Gamma\text{-1-}\Phi}{\Gamma\text{-6-}\Phi}$ и $\frac{\Gamma\text{-6-}\Phi}{\Phi\text{-6-}\Phi}$.

Результаты представлены на рисунках 4, а и б. Как видно из рисунка, коэффициенты соотношений мутазной части реакции зависят от времени инкубации и их показатели стабилизируются между 45- и 60-минутной инкубации в яичниках обоих видов животных. В яичниках свиней равновесие реакции Γ -1- $\Phi \rightarrow \Gamma$ -6- Φ достигается при содержании в инкубационной среде 12% Γ -1- Φ и 88% Γ -6- Φ . В яичниках телок равновесие мутазной реакции устанавливается при 8,3% Γ -1- Φ и 91,7% Γ -6- Φ . Иначе выглядит соотношение в мутазно-изомеразной реакции яичников между Γ -6- Φ и Φ -6- Φ .

Соотношение $\frac{\Gamma\text{-6-}\Phi}{\Phi\text{-6-}\Phi}$ не зависит от времени инкубации

и сохраняется на одном уровне при 72% Γ -6- Φ и 28% Φ -6- Φ в яичниках свиней и 63% Γ -6- Φ и 37% Φ -6- Φ в яичниках телок. Данные соотношения $\frac{\Gamma\text{-6-}\Phi}{\Phi\text{-6-}\Phi}$ указы-

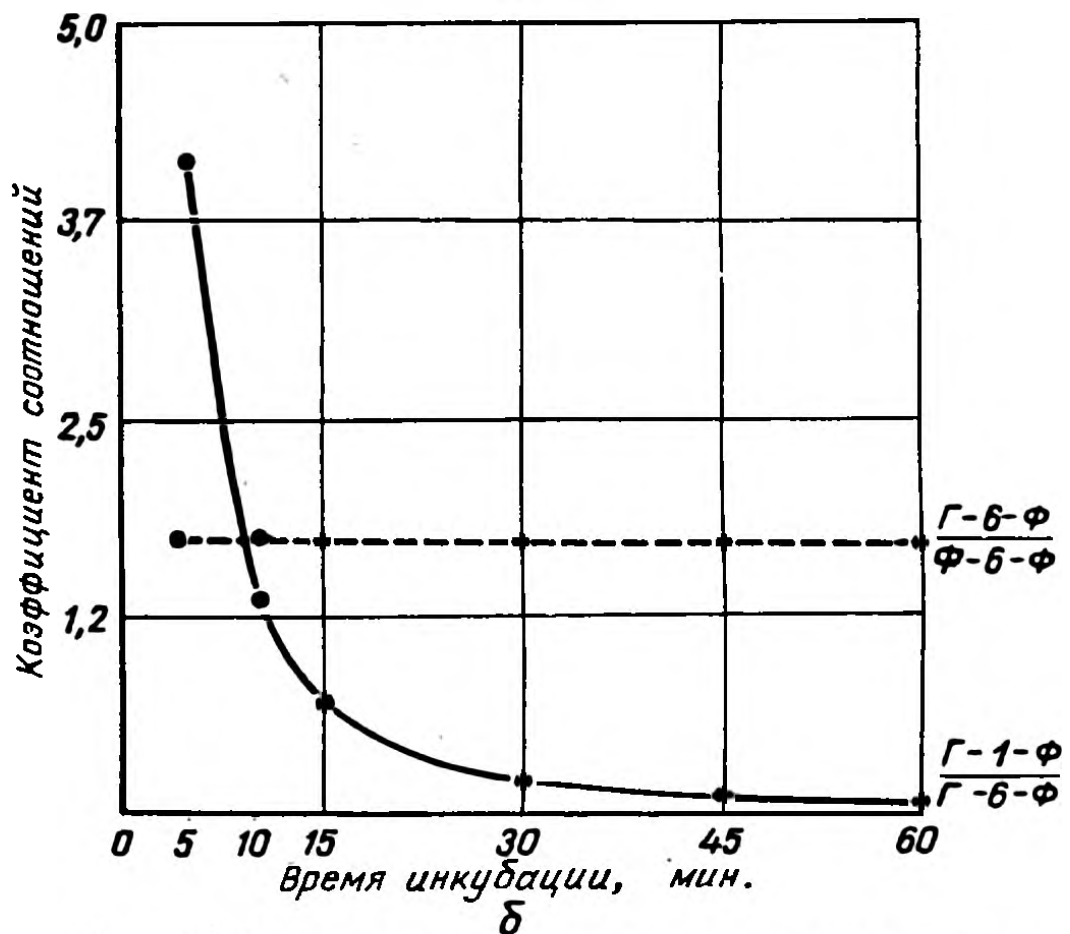
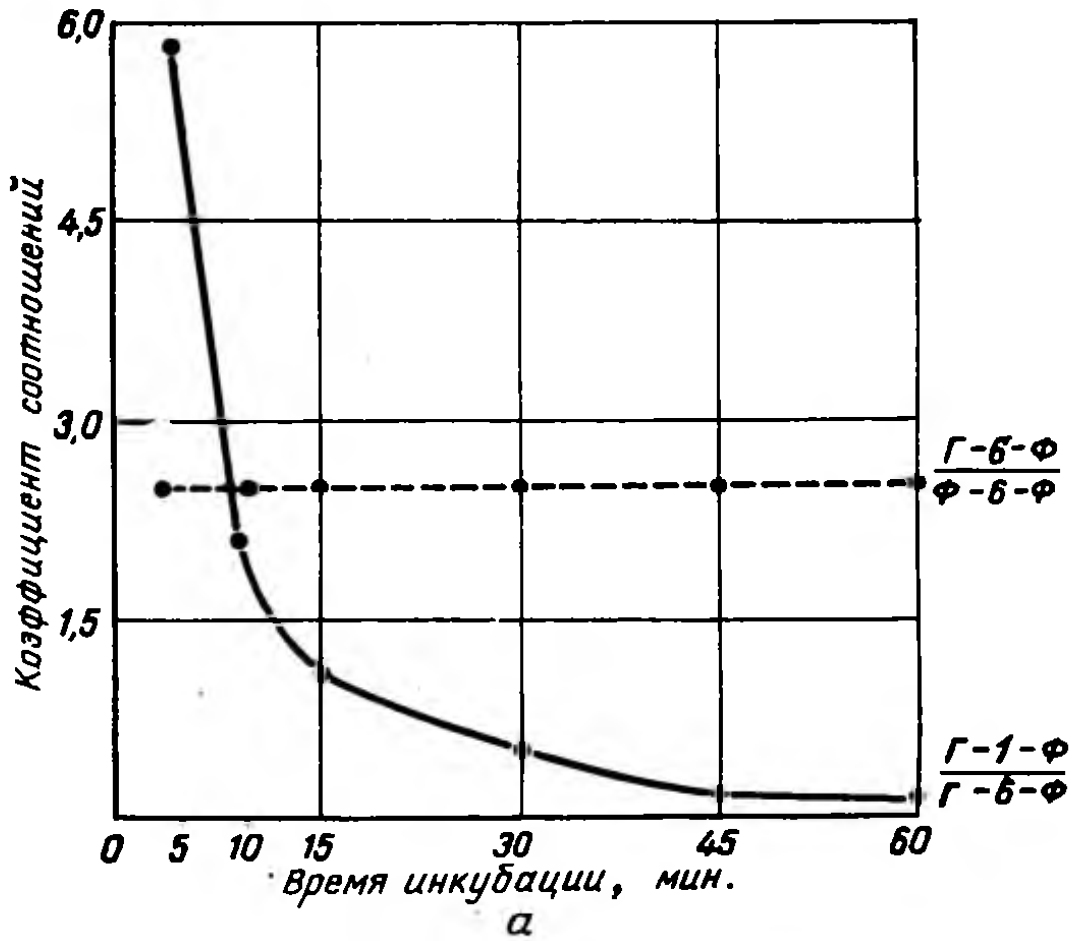


Рис. 4. Соотношение компонентов мутагенно-изомерной реакции в яичниках:
 а — свиной; б — телок.

вают на то, что процесс изомеризации Г-6-Ф и Ф-6-Ф намного быстрее проходит, чем превращение Г-1-Ф в Г-6-Ф как в яичниках свиней, так и телок.

Результаты превращения Г-6-Ф в изомеразной реакции яичниками представлены на рис. 5.

Как показывают данные, Г-6-Ф превращается в Ф-6-Ф с большей скоростью. Особенно интенсивно реакция протекает в первые минуты инкубации. Так, в яичниках свиней при всех концентрациях субстрата и при концентрациях Г-6-Ф 1, 2, 4 *ммоля* в яичниках телок изомеризация Г-6-Ф в Ф-6-Ф протекает линейно до 4 минут инкубации. Увеличение концентрации Г-6-Ф до 8, 12 и 16 *ммолей* сдвигает наступление равновесия в яичниках телок за пределы 4 минут инкубации.

Наряду с превращением Г-6-Ф в Ф-6-Ф мы исследовали и превращение Ф-6-Ф в Г-6-Ф гомогенатами яичников. Из рис. 6 видно, что в яичниках свиней и телок превращение Ф-6-Ф в Г-6-Ф протекает со значительно большей скоростью, чем Г-6-Ф в Ф-6-Ф. Так, в яичниках свиней скорость реакции Г-6-Ф→Ф-6-Ф составляет соответственно 20,2; 27,7; 37,02; 41,92; 43,32 *мкмолей* на 100 *мг* белка в минуту при концентрации Г-6-Ф 1, 2, 4, 8 и 16 *ммолей*. Реакция Ф-6-Ф→Г-6-Ф при тех же концентрациях Ф-6-Ф протекает со скоростью 37,0; 50,0; 60,0; 66,0; 80,0 *мкмоля* на 100 *мг* белка в минуту.

Гомогенатами яичников телок Г-6-Ф в концентрации 1, 2, 4, 8, 12 и 16 *ммолей* превращается со скоростью 21,2; 30,3; 42,9; 49,39; 52,0; 55,0 *мкмоля* в минуту на 100 *мг* белка. Ф-6-Ф в данном случае использован в концентрациях 1, 2, 4, 8, 16 *ммолей*, при этом начальная скорость реакции составляет соответственно 35,0; 50,0; 66,8; 76,8; 76,8 *мкмоля* в минуту на 100 *мг* белка.

Максимальная скорость, высчитанная методом Лаинуивера — Берка для реакции Г-6-Ф→Ф-6-Ф, в гомогенатах яичников свиней равна 50,0 *мкмоля* при константе Михаэлиса, равной $1,46 \cdot 10^{-3}$ М, в яичниках телок — 63,0 *мкмоля* при $K_m 1,8 \cdot 10^{-3}$ М. Для реакции Ф-6-Ф→Г-6-Ф в яичниках свиней максимальная скорость составляет 83,3 *мкмоля* при $K_m 1,20 \cdot 10^{-3}$ М, в яичниках телок — 86,8 *мкмоля* при константе Михаэлиса $1,49 \cdot 10^{-3}$ М. При этом концентрациям субстратов,

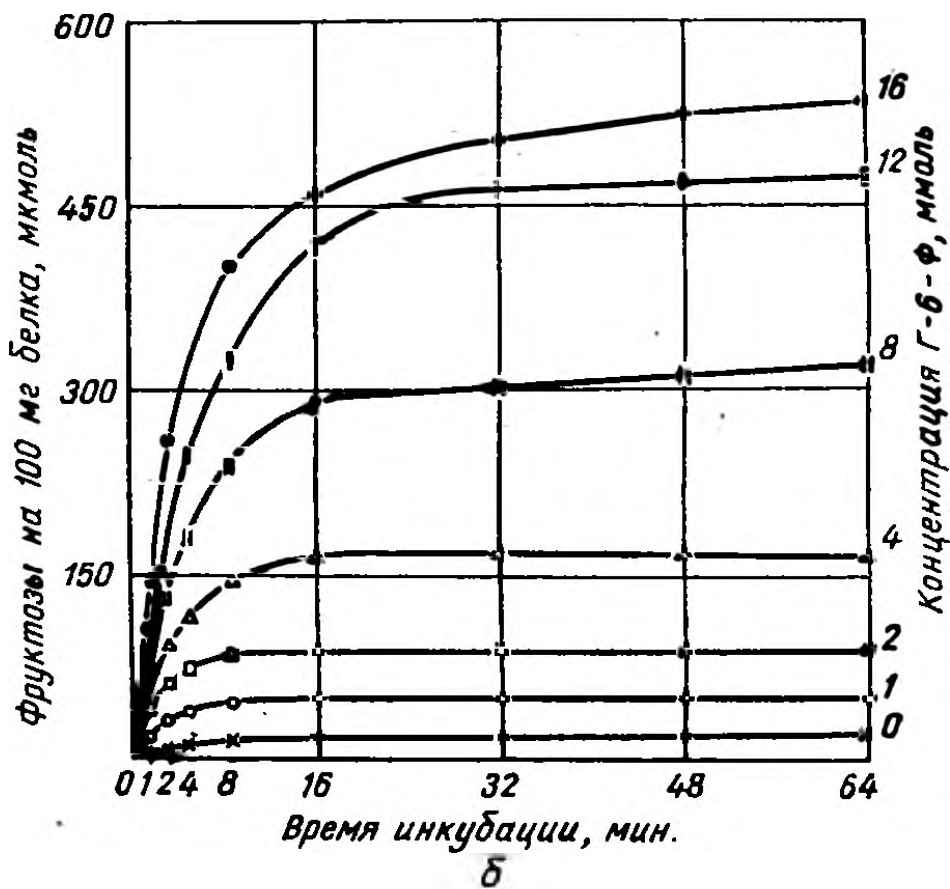
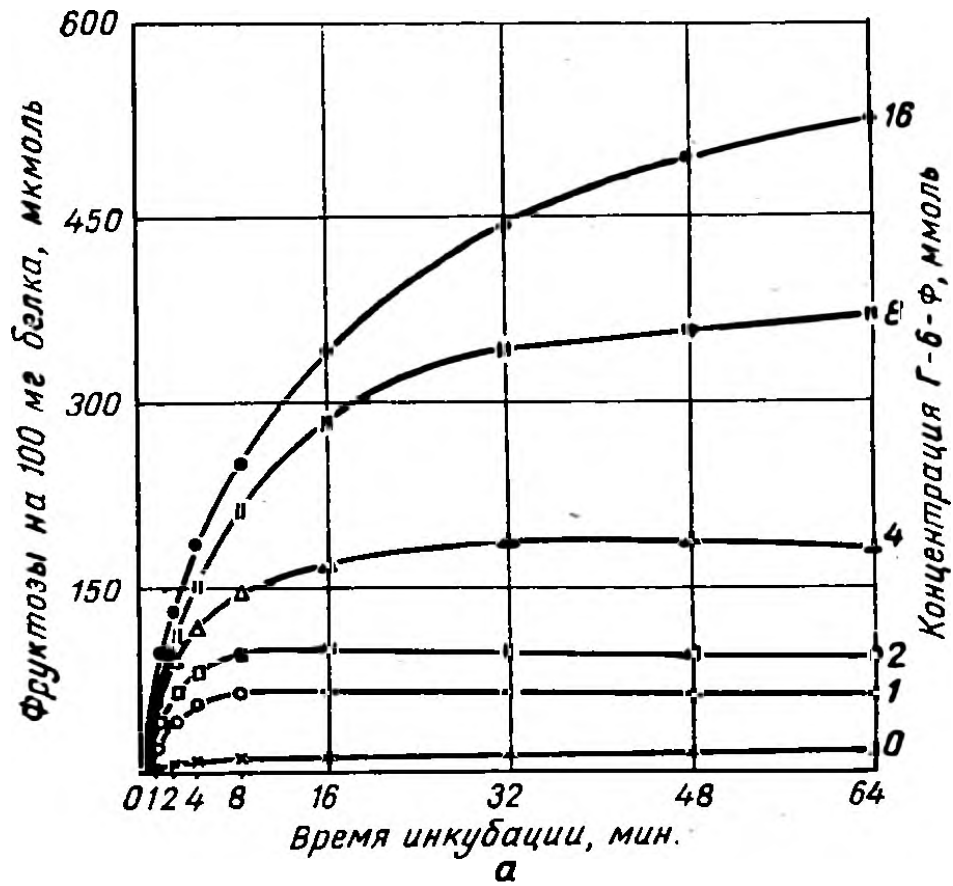


Рис. 5. Динамика содержания фруктозы при инкубации гомогенатов яичников:
 а — свиной; б — телок с Г-6-Ф.

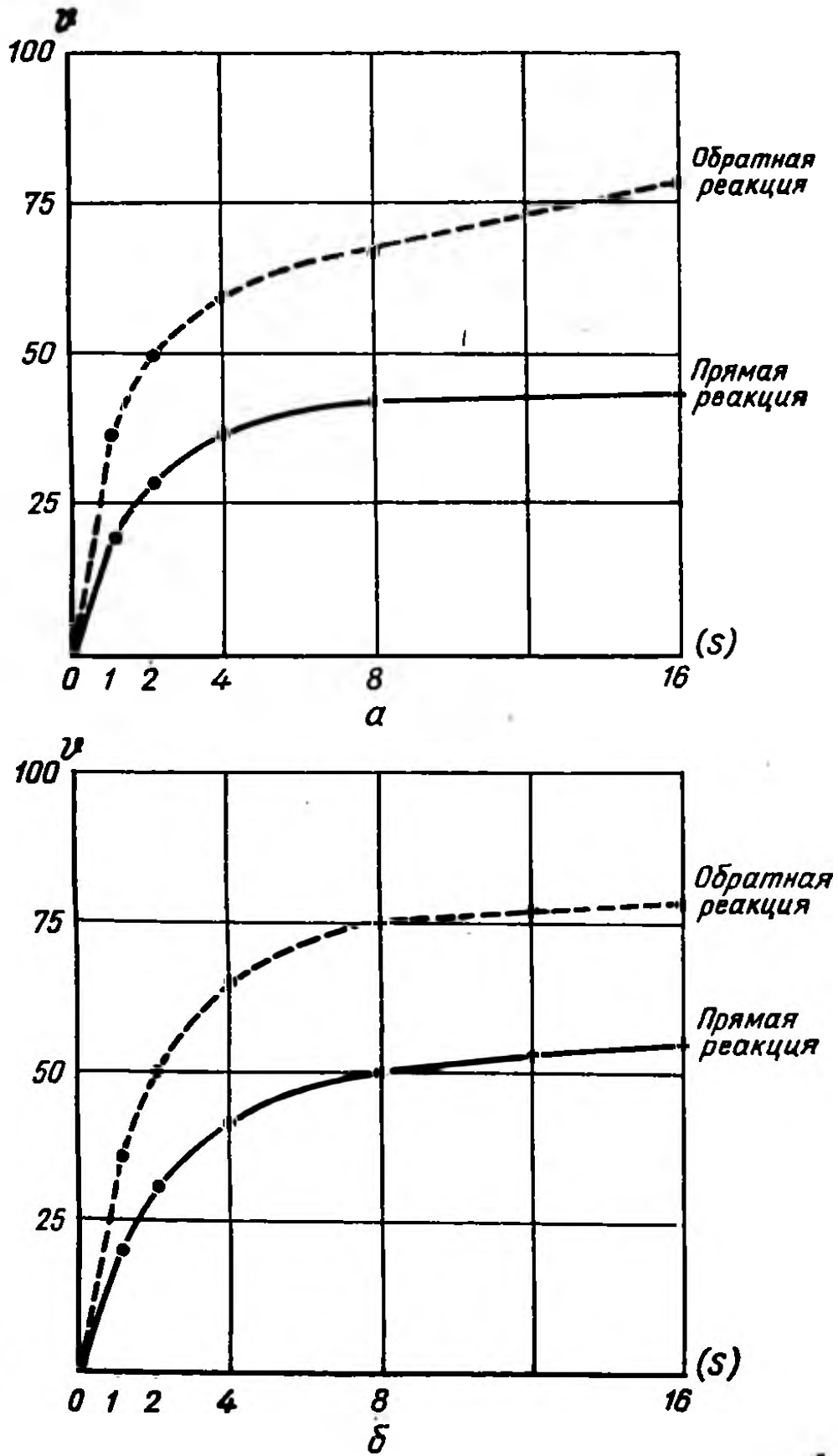
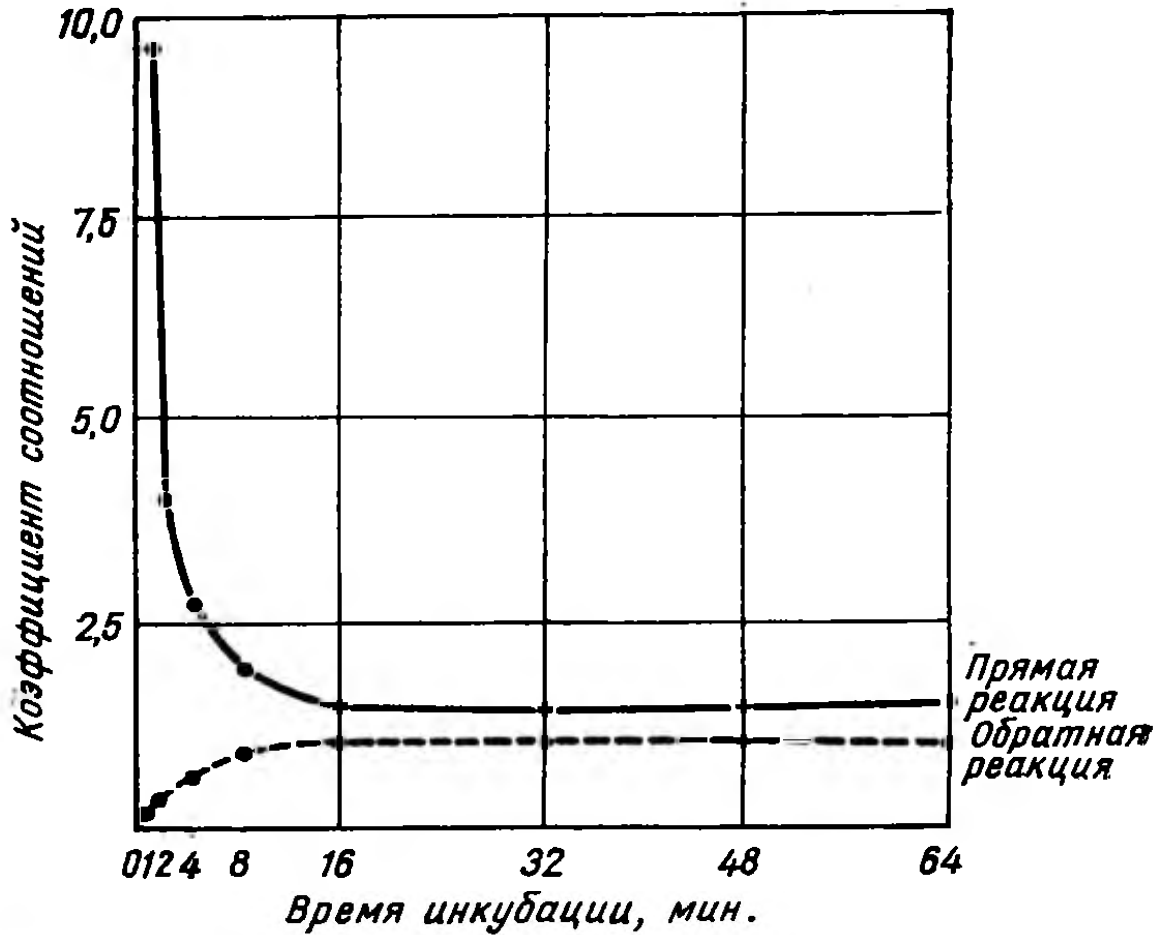
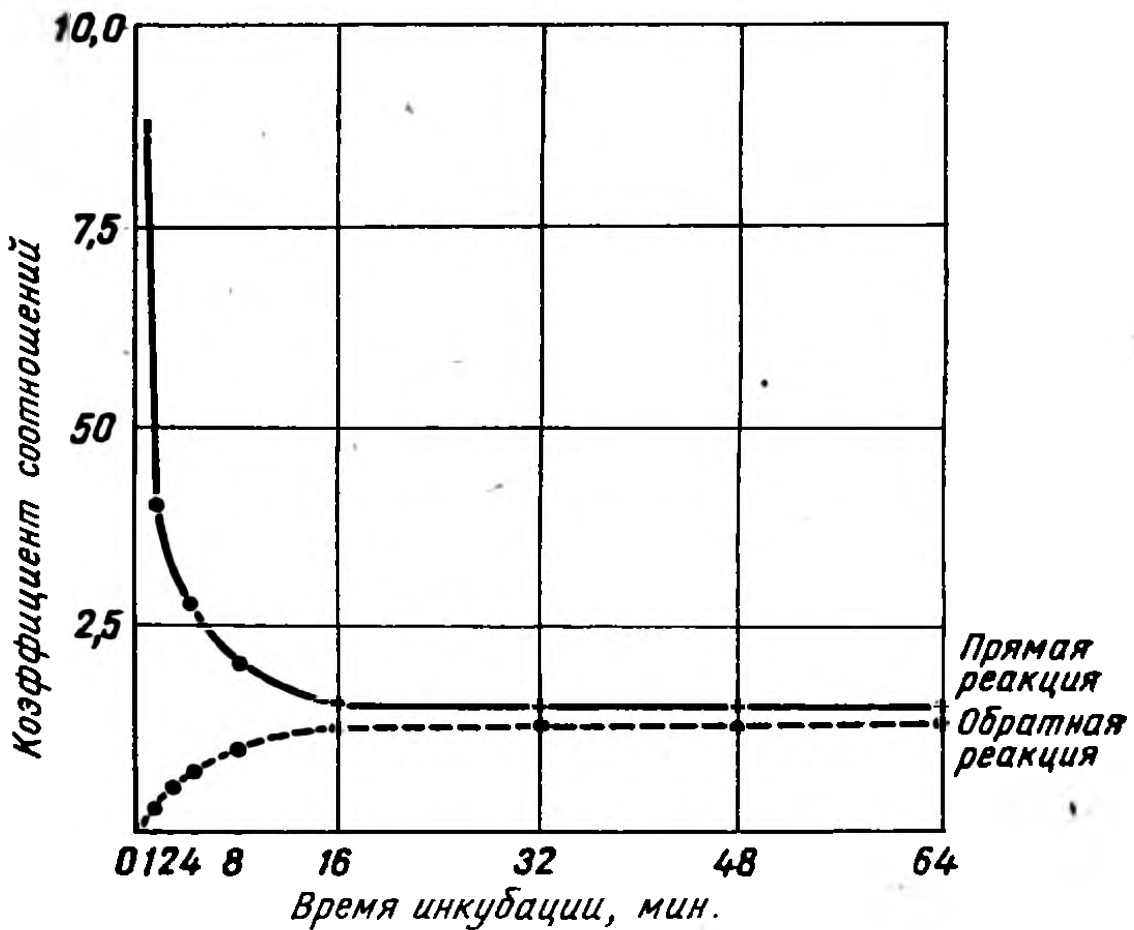


Рис. 6. Зависимость начальной скорости изомеразной реакции от концентрации субстрата в яичниках:
 а — свиней; б — телок.



а



б

Рис. 7. Соотношение компонентов фосфогексоизомеразной реакции в яичниках:

а — свиней; б — телок.

соответствующим значению константы Михаэлиса, соответствуют скорости, составляющие половину максимальных.

При анализе данных соотношения $\frac{\Gamma\text{-6-}\Phi}{\Phi\text{-6-}\Phi}$ изомеразной реакции обнаружена зависимость изменения коэффициентов соотношения от времени инкубации (рис. 7, а и б).

Равновесие реакции $\Gamma\text{-6-}\Phi \rightarrow \Phi\text{-6-}\Phi$ наступает в яичниках свиней тогда, когда в реакционной среде находится 62% $\Gamma\text{-6-}\Phi$ и 38% $\Phi\text{-6-}\Phi$. В реакции $\Phi\text{-6-}\Phi \rightarrow \Gamma\text{-6-}\Phi$ равновесие наступает при 56% $\Gamma\text{-6-}\Phi$ и 44% $\Phi\text{-6-}\Phi$.

В яичниках телок соотношение компонентов в реакции $\Gamma\text{-6-}\Phi \rightarrow \Phi\text{-6-}\Phi$ в период установления динамического равновесия составляет 63% $\Gamma\text{-6-}\Phi$ и 37% $\Phi\text{-6-}\Phi$. В случае реакции $\Phi\text{-6-}\Phi \rightarrow \Gamma\text{-6-}\Phi$ равновесие достигается при содержании 57% $\Gamma\text{-6-}\Phi$ и 43% $\Phi\text{-6-}\Phi$.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что обратная фосфогексоизомеразная реакция в яичниках свиней и телок преобладает над прямой.

Исходя из полученных данных можно сделать заключение, что ткань яичников обладает довольно высокой фосфоглюкомутазной и фосфогексоизомеразной активностью. Исследуемые ферменты имеют свои кинетические и видовые особенности. Так, скорости фосфогексоизомеразной реакции как в яичниках свиней, так и телок в 40—50 раз выше по сравнению с фосфоглюкомутазной.

Мутазно-изомеразная реакция в яичниках телок и свиней характеризуется своими особенностями. Скорость этой реакции в яичниках телок примерно в два раза выше. В суммарном мутазно-изомеразном превращении $\Gamma\text{-1-}\Phi$ лимитирующим звеном является фосфоглюкомутазная реакция.