

ФЕРМЕНТАТИВНОЕ ПРЕВРАЩЕНИЕ ГЛЮКОЗО-1-ФОСФАТА ГОМОГЕНАТАМИ ПЕРЕДНЕЙ ДОЛИ ГИПОФИЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

ГИДРАНОВИЧ В. И., ЩЕРБАКОВА С. А.

Глюкозо-1-фосфат (Г-1-Ф), являясь продуктом фосфорилазной реакции (P. Ostern et al, 1939), при дальнейшем превращении подвергается действию фосфоглюкомутазы с образованием глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф). Фосфоглюкомутаза (α -D-глюкозо-1, 6-дифосфат: α -D-глюкозо-1-фосфат — фосфотрансфераза, НФ 2. 7. 5. 1) впервые обнаружена в 1938 г. G. T. Cori et al. Г-6-Ф может подвергаться изомеризации с образованием фруктозо-6-фосфата (Ф-6-Ф). Глюкозофосфатизомераза (D-глюкозо-6-фосфат-кетолизомераза, НФ 5. 3. 1. 9), открытая в 1933 г. K. Lohmann, является одним из наиболее активных ферментов гликолиза.

Ф-6-Ф при дальнейшем фосфорилировании дает начало гликолизу, а также может вовлекаться в неокислительные реакции пентозофосфатного пути. Суммарная фосфоглюкомутазно-изомеразная реакция является общей как для гликолитического, так и для неокислительного пентозофосфатного пути превращения углеводов.

В последние годы изучению фосфоглюкомутазной реакции различных органов и тканей сельскохозяйственных животных посвящен ряд работ (И. Н. Вовк, 1965, 1971; А. И. Колотницкий, 1971; И. Г. Пупин, 1972). Данные по изучению фосфоглюкомутазной активности эндокринных желез сельскохозяйственных животных немногочисленны. Эти работы показывают, что при определении ферментативной активности каждая ткань требует определенных условий, которые должны быть изучены и проверены с использованием основных методов энзимологии.

Цель нашей работы — изучение кинетики фосфоглюкомутазной реакции и выяснение взаимосвязи между скоростью этой реакции и интенсивностью включения Г-1-Ф в пентозофосфатный путь превращения углеводов в аденогипофизе крупного рогатого скота.

Исследования проводили с гомогенатами передней доли гипофиза коров, которые готовили на 0,05 М трис-НСI буфере (РН-7,4) в соотношении 1 : 50. Из равных объемов гомогената

та и субстрата различных концентраций, приготовленных на трис-НСI буфере, готовили инкубационные смеси. Конечная концентрация Г-1-Ф составляла 1, 2, 4, 8, 12 и 16 ммолей, разведение ткани 1:100. Инкубацию проводили в ультратермостате с промежутками времени 5, 15, 30, 45, 60 и 120 минут. Одновременно инкубировали гомогенат без субстрата в разведении 1:100. Реакцию останавливали и осаждали белки трихлоруксусной кислотой. В контрольные пробы трихлоруксусную кислоту добавляли в гомогенат перед смешиванием с субстратом.

В безбелковом фильтрате определяли фруктозу по Кульке (1956), сумму пентоз и седогептулозу по Головацкому (1965), триозы по Брунсу. В инкубационной смеси определяли белок по Лоури и все расчеты вели в мкмольях на 100 мг белка. Полученный экспериментальный материал обрабатывали статистически разностным методом (В. С. Асатиани, 1965). О фосфоглюкомутазной активности гомогенатов адеиногипофиза судили по образованию Ф-6-Ф из Г-1-Ф в суммарной фосфоглюкомутазно-изомеразной реакции: Г-1-Ф_{ФГМ} $\xrightleftharpoons[\text{ГФИ}]{\text{ГФМ}}$ Г-6-Ф $\xrightleftharpoons[\text{ФФИ}]{\text{ФФМ}}$ Ф-6-Ф.

Результаты исследований превращения Г-1-Ф во Ф-6-Ф показали, что в начальный период инкубации (5 и 15 минут) с увеличением концентрации Г-1-Ф до 4 молей продукт реакции нарастает, а при увеличении концентрации до 8—16 ммолей — несколько уменьшается. Увеличение времени реакции с 5 до 15 минут ведет к нарастанию продукта реакции примерно в два раза. Начальную скорость реакции рассчитывали при инкубации 5 минут. При концентрации Г-1-Ф 1; 2; 4; 8; 12 и 16 ммолей начальная скорость соответственно составляла 4,6; 6,8; 8,4; 7,4; 7,6 и 8,2 мкмолей/мин⁻¹ на 100 мг белка. Насыщение фермента субстратом происходит при концентрации Г-1-Ф в пределах 2—4 ммолей, а дальнейшее увеличение концентрации субстрата не ведет к повышению скорости реакции. Построив график прямолинейной зависимости начальной скорости фосфоглюкомутазной реакции от концентрации Г-1-Ф (рис. 1), рассчитали максимальную (предельную) скорость (V) и константу Михаэлиса ($\kappa'm$), которые соответственно равны $1,00 \cdot 10^{-3}M$ и $8,92$ мкмолей/мин⁻¹.

Превращение Г-1-Ф в глюкомутазной реакции сопровождается биосинтезом таких метаболитов, как пентозы, седогептулоза и триозы. Образование пентоз за счет Г-1-Ф происходит при концентрации 1,2 и 4 ммолья и за 45 минут инкубации соответственно составляет 3,91; 6,21; 3,45; за 60 ми-

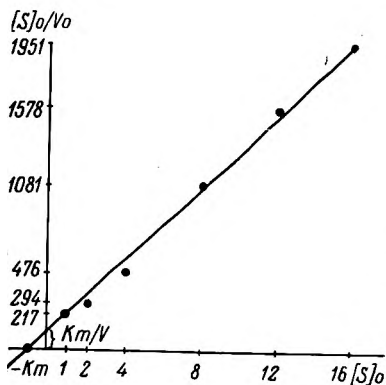


Рис. 1. График зависимости начальной скорости фосфоглюкомутазной реакции от концентрации Г-1-Ф.

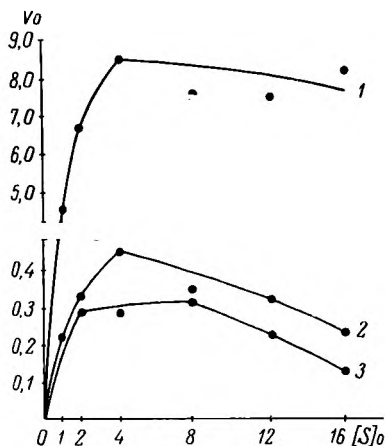


Рис. 2. Зависимость скорости фосфоглюкомутазной реакции и образования седогептулозо-7-фосфата и фосфотриоз от концентрации Г-1-Ф. Условные обозначения:

1 — фруктозо-6-фосфат; 2 — фосфотриозы, 3 — седогептулозо-7-фосфат.

нут — 5,40; 6,29; 3,38 мкмоль на 100 мг белка. При 8 ммоль Г-1-Ф пентоз образуется примерно столько же, сколько и за счет эндогенных субстратов, а при более высоких концентрациях субстрата наблюдается убыль пентоз.

Четкая зависимость биосинтеза седогептулозо-7-фосфата от концентрации Г-1-Ф наблюдается при длительной инкубации. Так, при концентрации Г-1-Ф 1, 2, 4; 8; 12 и 16 ммоль за 45 минут соответственно образуется седогептулозо-7-фосфата 6,2; 13,3; 15,9; 14,6; 12,4; 8,0, а за 60 минут — 10,0; 17,5; 17,1; 19,1; 13,4; 8,2 мкмоль на 100 мг белка. Одновременно с образованием седогептулозы и пентоз наблюдается накопление фосфотриоз, которое зависит как от концентрации Г-1-Ф, так и от времени инкубации.

Образование седогептулозо-7-фосфата характеризует течение транскетолазной реакции, в которой образуются и фосфотриозы. Более высокая концентрация фосфотриоз по сравнению с седогептулозо-7-фосфатом может указывать на транскетолазную конденсацию ксилулозо-5-фосфата с эритрозо-4-фосфатом с образованием Ф-6-Ф и 3-фосфоглицеринового альдегида.

На рис. 2 показана гиперболическая зависимость между начальной скоростью фосфоглюкомутазной реакции и образованием седогептулозо-7-фосфата и фосфотриоз.

Полученные данные свидетельствуют о том, что метаболиты начальных этапов гликолиза являются субстратами пентозофосфатного пути превращения углеводов в передней доле гипофиза. При этом наблюдается четкая зависимость между интенсивностью включения Г-1-Ф в пентозофосфатный путь и начальной скоростью фосфоглюкомутазной реакции.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ У ЖИВОТНЫХ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ДИБРОМОМ И БАЙТЕКСОМ

АРЕСТОВ И. Г.

Фосфорорганические соединения (ФОС), проходя через печеночный барьер, могут влиять в той или иной степени на функциональное состояние печени животных и биохимические процессы, регулируемые ею (В. А. Полецкий, 1964; В. Г. Цапко, 1965; Л. Т. Киричек и Н. С. Харченко, 1966). Работ о влиянии ФОС на функциональное состояние печени недостаточно, а в отношении диброма и байтекса в доступной нам литературе нет.

Мы изучали влияние диброма и байтекса на антитоксическую, гликогенную, экскреторную, белково-ферментообразовательную функцию печени животных. Эксперименты проведены на 90 белых мышах, 18 кроликах, 12 овцах и 12 поросятах.

Антитоксическую функцию печени изучали на белых мышах, и о состоянии ее судили по изменению продолжительности сна животных при внутривентрикулярной инъекции гексена в дозе 75 мг/кг через час после перорального введения изучаемых препаратов (Э. П. Зацепин, 1967).

Установлено, что дибром (200 мг/кг) и байтекс (180 мг/кг) в дозах 40% от ДЛ₅₀ потенцируют гексеналовый наркоз у белых мышей, а это указывает на снижение антитоксической функции печени, так как гексенал инактивируется исключительно микросомами печени (F. E. Schideman *et al.*, 1947; A. M. Rappoport, 1956). Следовательно, поступающие в организм животного ФОС угнетали энзиматическую актив-