

А. А. ГАЛОЯН, Ф. М. СААКЯН

ИЗОЛИРОВАНИЕ КОРОНАРОРАСШИРЯЮЩИХ ГОРМОНОВ ИЗ НЕЙРОСЕКРЕТОРНЫХ ГРАНУЛ

(Представлено академиком С. Е. Севериным 26 I 1971)

Ранее нами было показано наличие двух коронарорасширяющих гормонов, условно названных веществами К и С, в гипоталамо-нейрогипофизарной системе млекопитающих (1-3). Были разработаны методы их выделения и очистки на сефадексах (Г-10, Г-25) и на ионообменниках (СМ-целлюлоза ДЕАЕ-целлюлоза). Изучены были спектры поглощения веществ К и С при различных рН среды, химический состав и их некоторые физико-химические свойства (4-6).

Методами гелевой фильтрации (Г-100) и ионообменной хроматографии удалось выделить два индивидуальных белка, с которыми связаны отдельно вещества К и С (7, 8). Было показано также, что вещества К и С из мозга выделяются в кровь (9) и оказывают влияние на коронарные сосуды, минуя аденогипофиз (параденогипофизарным путем). Получен ряд данных, свидетельствующих о гормональной регуляции сердечного кровообращения специфическими нейрорегуляторами гипоталамуса (10).

Представляло интерес выяснить отношение веществ К и С к нейросекреторным гранулам гипоталамо-нейрогипофизарной системы. Известно, что вазопрессин и окситоцин образуются в супраоптических и паравентрикулярных ядрах гипоталамуса и транспортируются в нейрогипофиз в составе нейросекреторных гранул (11). Гранулы-носители вазопрессина и окситоцина неодинаковы (12).

В настоящем исследовании мы задались целью выделить нейросекреторные гранулы из гипоталамо-нейрогипофизарной системы животных и выяснить наличие в них К и С.

Методы выделения нейросекреторных гранул из нейрогипофиза путем дифференциального центрифугирования в градиенте плотности сахарозы разработаны рядом авторов (13-15).

Нейросекреторные гранулы гипоталамуса и нейрогипофиза выделяли методом (16) с некоторыми видоизменениями. Каждый слой, полученный после ультрацентрифугирования, отделяли, лиофилизировали. Экстракцию

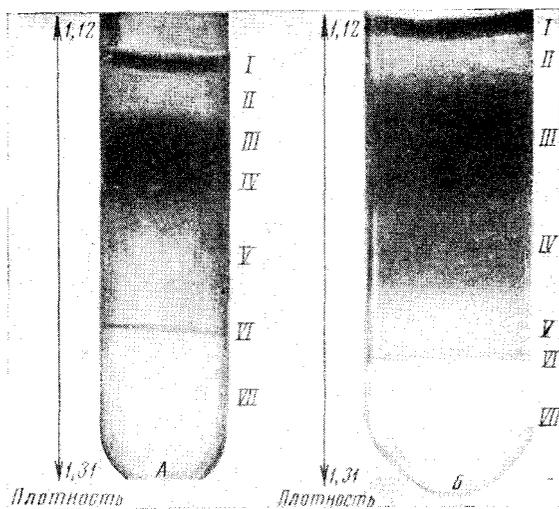
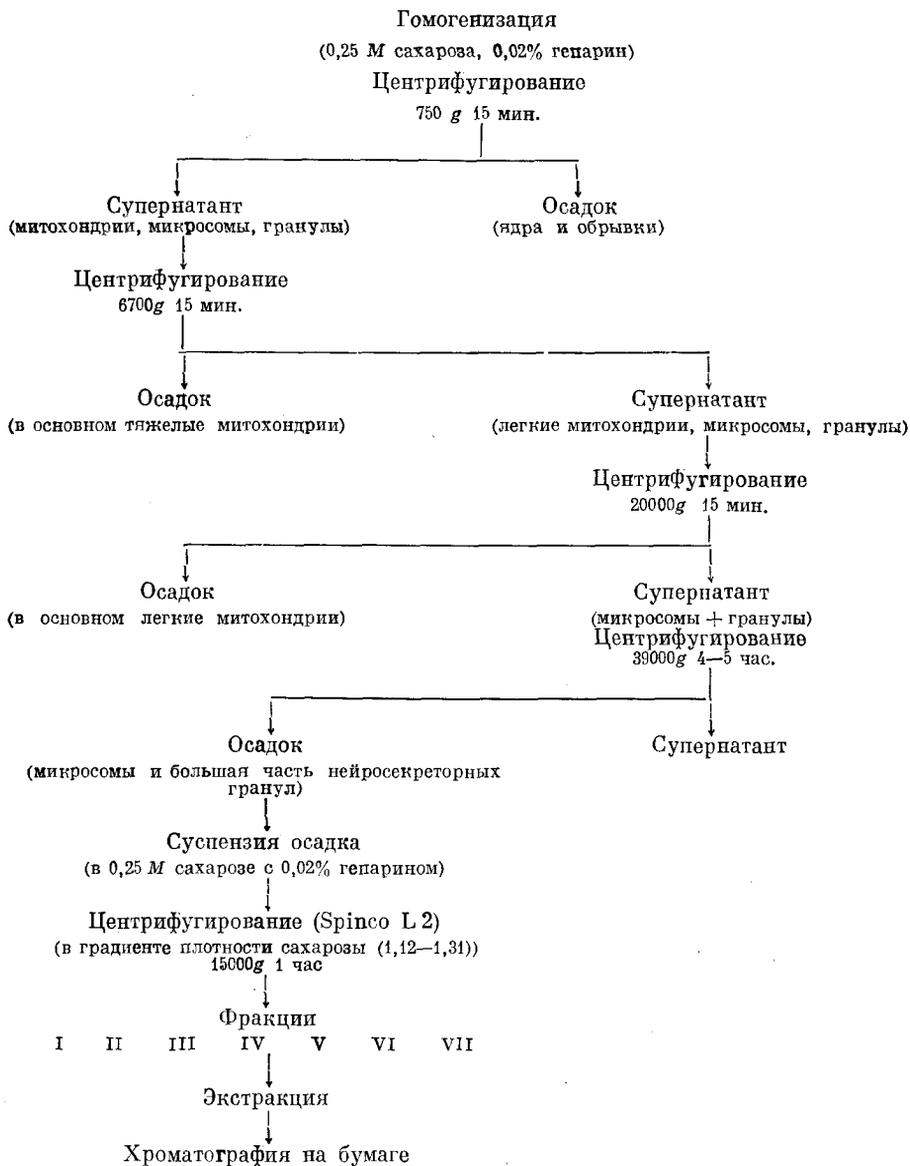


Рис. 1. Профиль разделения нейросекреторных гранул нейрогипофиза (А) и гипоталамуса (Б) крупного рогатого скота в градиенте плотности сахарозы

нейрогормонов из нейросекреторных гранул производили 0,25% CH_3COOH при 50—60°. Полученный экстракт центрифугировали при 10 000g 15 мин., надосадочную жидкость снова высушивали и наносили на хроматографическую бумагу марки FN-11. Растворитель бутанол — уксусная кислота — вода (4:1:5). Коронарный кровоток измеряли по методу Моравитца и Цана (17).

Схема выделения нейросекреторных гранул и нейрогормонов (К и С) из гипоталамо-нейрогипофизарной системы



На схеме показано выделение нейросекреторных гранул и экстракция нейрогормонов (К и С) из гипоталамо-нейрогипофизарной системы крупного рогатого скота.

Путем ультрацентрифугирования в градиенте плотности сахаразы (при 150 000g в течение 1 часа) смесь микросом и нейросекреторных гранул разделяется на 7 слоев (рис. 1). Следует отметить, что после ультрацентрифугирования в градиенте сахаразы наиболее отчетливо разделяются нейросекреторные гранулы нейрогипофиза.

Электронномикроскопические исследования показали, что нейросекреторные гранулы в основном сосредоточены в нижних слоях (III — VII). Большие нейросекреторные гранулы в наибольшем количестве сосредоточены в VII слое как при ультрацентрифугировании смеси этих гранул нейрогипофиза, так и гипоталамуса. Микросомы сосредоточены в основном в верхних слоях. Содержимое каждого слоя после лиофилизации подвергали экстракции разведенными растворами уксусной кислоты. Супернатант разделяли бумажной хроматографией в растворителе бутанол — уксусная кислота — вода (4:1:5). Из нейросекреторных гранул экстрагируется ряд аминокислот и нингидринположительных соединений. Из

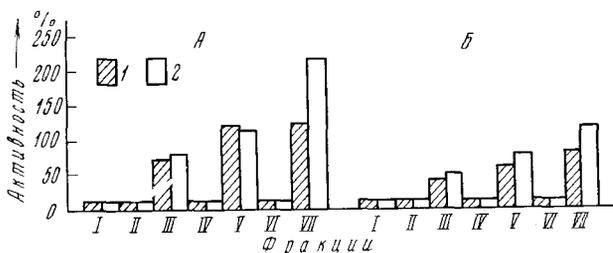


Рис. 2. Увеличение объемной емкости крови, оттекающей из венозных сосудов сердца за единицу времени, под влиянием элюатов хроматограмм экстрактов нейросекреторных гранул нейрогипофиза (А) и гипоталамуса (Б) крупного рогатого скота. Процент активности вещества С (1) и вещества К (2)

этих гранул (III, VI и VII слои) как гипоталамуса, так и нейрогипофиза удалось выделить две коронарорасширяющие фракции, по R_f совпадающие с веществами К и С (R_f 0,15 и 0,35).

Как видно из рис. 2 (черными столбиками — процент активности вещества С), в I, II, IV слоях коронарорасширяющие гормоны отсутствуют. Наивысшую коронарорасширяющую активность обнаружили в VII слое. В соответствующих фракциях нейрогипофиза коронарорасширяющая активность К и С наиболее высокая. Этот факт мы склонны объяснить тем, что количество гранул намного больше в нейрогипофизе, чем в гипоталамусе. Полученные данные подтверждают ранее высказанные предположения о том, что обнаруженные нами коронарорасширяющие вещества образуются в нейросекреторных ядрах гипоталамуса и транспортируются в составе нейросекреторных гранул как в нейрогипофиз, так и в общий кровоток.

Институт биохимии
Академии наук АрмССР
Ереван

Поступило
19 XII 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. А. Галоян, Докл. АН АрмССР, 34, № 3 (1962). ² А. А. Галоян, Некоторые проблемы биохимии гипоталамической регуляции, 1965. ³ А. А. Галоян, Вопросы биохимии мозга, 3, 1967. ⁴ А. А. Galoyan, II Intern. Meeting of the Intern. Soc. for Neurochemistry, Milan, 1969, p. 174. ⁵ А. А. Galoyan, Seventh Intern. Congr. of Biochem., Abstr. V, General Sessions, 1967, p. 939. ⁶ А. А. Галоян, Докл. АН АрмССР, 48, № 5 (1969). ⁷ А. А. Галоян, Р. М. Срапионян, Докл. АН АрмССР, 42, № 4 (1966). ⁸ А. А. Галоян, Р. М. Срапионян, Г. Г. Геворкян, Биол. журн. Армении, 20, № 4 (1967). ⁹ А. А. Галоян, Р. А. Алексанян и др., Докл. АН АрмССР, 44, № 2 (1967). ¹⁰ А. А. Галоян, Вестн. АН СССР, № 12 (1968). ¹¹ W. Hild, G. Zetler, Zs. Exp. Med., 120, 236 (1956). ¹² F. S. LaBella, G. Beaulien R. J. Reiffenstein, Nature, 193, 4811 (1962). ¹³ F. S. LaBella, Canad. J. Physiol. Pharmacol., 46, 335 (1968). ¹⁴ M. Rosenfeld, Johns Hopkins Hospital Bull., 66, 398 (1940). ¹⁵ T. Schiebler, Zs. Zellforsch., 36, 563 (1952). ¹⁶ F. S. LaBella et al., Arch. Biochem. and Biophys., 100, 399 (1963). ¹⁷ P. Moravitz, A. Zahn, Zbl. Physiol., 26, 465, 470 (1912).